

**EFEK PREVENTIF EKSTRAK BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*)
TERHADAP EKSPRESI IL-6 DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
ALVEOLUS PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
YANG DIBERI PAPARAN ASAP OBAT NYAMUK**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

Atok Tirto Suwandono
135130107111006



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2018

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

EFEK PREVENTIF EKSTRAK BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*) TERHADAP EKSPRESI IL-6 DAN GAMBARAN HISTOPAT ALVEOLUS PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI PAPARAN ASAP OBAT NYAMUK

Oleh:

Atok Tirto Suwandono
NIM. 135130101111006

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dr. Sri Murwani, drh., MP.
NIP. 19630101 198903 2 001

drh. Viski Fitri H, M. Vet
NIP. 19880518 201504 1 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Atok Tirto Suwandono

NIM : 135130107111006

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Preventif Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap Ekspresi IL-6 dan Gambaran Histopat Alveolus pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberikan Paparan Obat Nyamuk

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, makasaya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,

Yang menyatakan,

(Atok Tirto Suwandono)

NIM. 135130107111006

**EFEK PREVENTIF EKSTRAK BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*)
TERHADAP EKSPRESI IL-6 DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI
ALVEOLUS PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
YANG DIBERI PAPARAN ASAP OBAT NYAMUK**

ABSTRAK

Penggunaan obat nyamuk berbahaya karena memiliki kandungan bahan aktif *d-allethrin* menyebabkan gangguan pada pernafasan. Obat nyamuk mengandung 10 molekul radikal dalam satu kali hisapan yang dapat memicu kerusakan pada sel alveolar. Buah semangka kandungan antioksidannya berupa likopen pada bagian buah yang tinggi jika dibandingkan buah dan sayuran lainnya. Sehingga buah semangka dapat dijadikan alternatif sebagai tindakan preventif dalam menangkal radikal bebas pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang di paparkan obat nyamuk. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek preventif ekstrak buah semangka terhadap ekspresi IL-6 dengan gambaran histopat alveolar. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap, terdiri dari lima kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif yang dipaparkan menggunakan obat nyamuk bakar selama 4 jam/hari selama 20 hari, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 yaitu tikus putih yang dipaparkan asap obat nyamuk, sebelumnya pemaparan diberikan ekstrak semangka masing-masing dengan dosis sebesar 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, dan 100 mg/kg BB selama 20 hari. Parameter yang diamati adalah ekspresi IL-6 menggunakan metode Imunohistokimia dan histopatologi alveolar menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Analisa data ekspresi IL-6 dilakukan secara statistik kuantitatif dengan metode ANOVA dilanjutkan dengan BNJ ($\alpha=0,05$), sedangkan gambaran histopatologi alveolar dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian preventif buah ekstrak semangka secara signifikan mampu menurunkan ekspresi IL-6 dan dapat mencegah kerusakan gambaran histopatologi alveolus. Dosis 100 mg/kgBB merupakan dosis terbaik yang mampu menunjukkan hasil mendekati kelompok Kontrol Negatif. Kesimpulan dari penelitian ini adalah Buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat digunakan sebagai preventif pada tikus yang diberikan paparan asap obat nyamuk.

Kata Kunci : Obat nyamuk, semangka (*Citrullus lanatus*), IL-6, histopatologi alveolus

**EFFECT PREVENTIVE EFFECT OF EXTRACT WATER MELON
(Citrullus Lanatus) ON IL-6 EXPRESSION AND HISTOPATHOLOGY
PICTURE ALVEOLUS ON MOUSE WHITE (Rattus
Norvegicus) THAT HAVE EXPOSED BY
SMOKE MOSQUITO
REPELLENT**

ABSTRACT

Use mosquito repellent because it has d-allethrin active ingredients causing respiratory disturbance. The mosquito repellent contains 10 radical molecules in one suction that can point to damage to alveolar cells. Watermelon fruit contains antioxidant substances in the fruit is high when compared to other fruits and vegetables. Because watermelon fruit can be used as an alternative to preventive measures in warding free radicals in mice (*Rattus norvegicus*) in the mosquito repellent. This study aims to determine the effect of watermelon extract prevention on IL-6 expression by modifying alveolar histopath. This study used the Completely Randomized Design Method, consisting of five groups: negative control group, positive control group exposed using mosquito coils for 4 hours / day for 20 days, treatment group 1, treatment 2 and treatment 3 white mice were immediately exposed to mosquito coils, previously exposed to the semangka extract each with a dose of 25 mg / kg BW, 50 mg / kg BW, and 100 mg / kg BW for 20 days. The appropriate parameter is the expression of IL-6 using the Immunohistochemical method and alveolar histopathology using the Hematoxylin Eosin dye. The data analysis of IL-6 designation was done statistically quantitatively with ANOVA method taking place with BNJ ($\alpha = 0,05$), whereas in alveolar histopathology was analyzed descriptively. The results showed that the prevention of watermelon (was significantly able to alter IL-6 expression and prevent alveolus histopathology. A dose of 100 mg / kgBW is the best dose capable of displaying results for the Negative Control group. The conclusion of this research is that Watermelon fruit (*Citrullus lanatus*) can be used as a precaution in rats which gives exposure to mosquito repellent smoke.

Keywords: Mosquito repellent, watermelon (*Citrullus lanatus*), IL-6, alveolar histopathology

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ **PREVENTIF EKSTRAK BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*) TERHADAP EKSPRESI IL-6 DAN GAMBARAN HISTOPAT ALVEOLUS PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI PAPARAN ASAP OBAT NYAMUK** ”.

Penyusun menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, secara khusus penyusun menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Sri Murwani, drh., MP. selaku pembimbing 1 yang telah menyempatkan dan menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis pada saat penulisan skripsi ini.
2. drh. Viski Fitri H, M. Vet. selaku pembimbing 2 yang telah menyempatkan dan menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis pada saat penulisan skripsi ini.
3. drh. Indah Amalia Amri, M.Sc. selaku dosen penguji skripsi atas segala kritik, saran dan bimbingan dalam penulisan skripsi ini.
4. drh. Ahmad Fauzi, M.Sc. selaku dosen penguji skripsi atas segala kritik, saran dan bimbingan dalam penulisan skripsi ini.
5. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
6. Orang tua tercinta yang selalu memberikan motivasi, saran dan semangat kepada penulis
7. Seluruh dosen yang telah membimbing dan memberikan ilmu selama menjalankan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
8. Kawan-kawan tim penelitian radikal bebas.
9. Seluruh kolega di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
10. Pasukan kumis kucing yang sudah menemani, menyupport atas segala kesusahan ini
11. Teman se PKL saya Ganes Septian yang sudah menemani setiap dimana ada kesusahan.

Penulis sadar bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Penulis berharap proposal skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca untuk itu saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, September 2017

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Obat Nyamuk.....	7
2.1.1 Kandungan Obat Nyamuk	8
2.1.2 Bahaya Paparan Obat Nyamuk	9
2.2 Alveolus.....	11
2.3 Imunitas pada Paru-Paru.....	13
2.4 Radikal Bebas	14
2.5 Interleukin-6 (IL-6).....	16
2.6 Buah Semangka	17
2.6.1 Morfologi Buah Semangka	19
2.6.2 Kandungan Buah Semangka	19
2.6.3 Potensi Buah Semangka sebagai Antioksidan	21
2.7 Hewan Coba Tikus (<i>Rattus novergicus</i>).....	23
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA	
PENELITIAN.....	25
3.1 Kerangka Konsep.....	25
3.2 Hipotesa Penelitian	28
BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN	29
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	29
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	29
4.2.1 Alat Penelitian	29

4.2.2	Bahan Penelitian.....	30
4.3	Tahapan Penelitian.....	30
4.3.1	Sampel Penelitian.....	30
4.3.2	Rancangan Penelitian	31
4.3.3	Variabel Penelitian	32
4.4	Prosedur Kerja	33
4.4.1	Persiapan Hewan Coba.....	33
4.4.2	Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Semangka	33
4.4.3	Perlakuan Hewan Coba	34
4.4.4	Isolasi Organ Paru-Paru	35
4.4.5	Pembuatan Preparat	35
4.4.6	Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE).....	37
4.4.7	Pewarnaan IL-6 dengan Metode Immunohistokimia.....	37
4.5	Analisa Data.....	38
BAB V.	HASIL DAN PEMBAHASAN	40
5.1	Kondisi Hewan Selama Pemaparan Asap Obat Nyamuk	40
5.2	Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) dalam Mencegah Ekspresi IL-6 pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk	41
5.3	Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) dalam Mencegah Ekspresi IL-6 pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk	50
BAB VI.	PENUTUP	59
DAFTAR PUSTAKA		60
LAMPIRAN		67

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan Likopen pada Sayuran dan Buah	21
3.1 Rancangan penelitian dengan 5 Kelompok Perlakuan	25
5.1 Ekspresi IL-6 alveolus tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	46

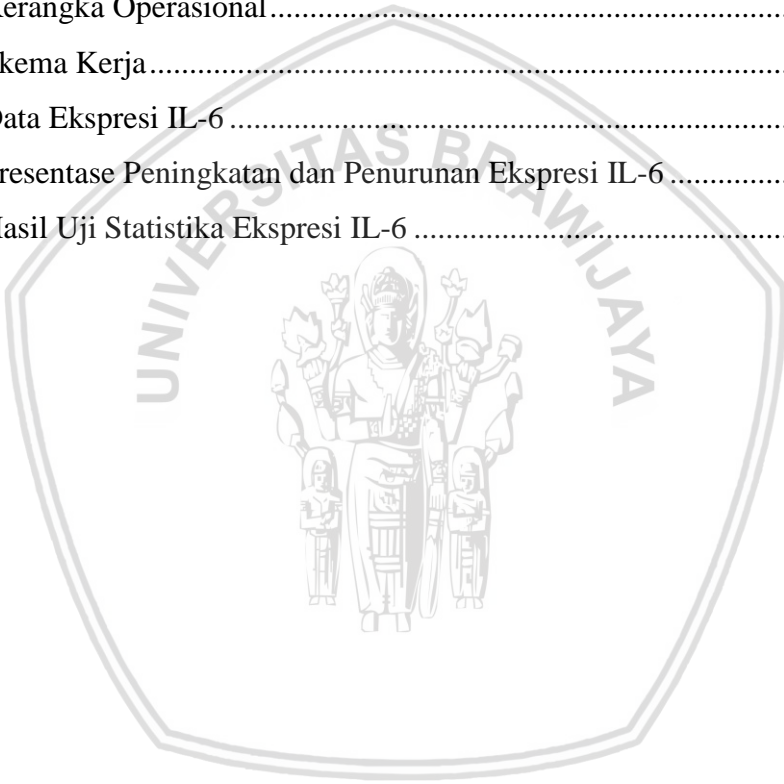


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Gambaran Histologi Alveolus	13
2.2 Buah Semangka (<i>Citrullus lanatus</i>)	18
3.1 Kerangka konseptual	25
5.1 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) pada organ alveolus Kontrol Negatif	43
5.2 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) pada organ alveolus Kontrol Positif	43
5.3 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) pada organ alveolus Perlakuan 1	44
5.4 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) pada organ alveolus Perlakuan 2	44
5.5 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) pada organ alveolus Perlakuan 3	45
5.6 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan HE Kontrol Negatif.....	52
5.7 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan HE Kontrol Positif	53
5.8 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan HE Perlakuan 1	54
5.9 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan HE Perlakuan 2.....	56
5.10 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan HE Perlakuan 3	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Keterangan Kelaiakan Etik	67
2 Determinasi Buah Semangka	68
3 Komposisi Pakan Standar AIN-93	69
4 Perhitungan Dosis Pemberian Ekstrak Buah Semangka.....	70
5 Kerangka Operasional.....	71
6 Skema Kerja.....	72
7 Data Ekspresi IL-6	75
8 Presentase Peningkatan dan Penurunan Ekspresi IL-6	76
9 Hasil Uji Statistika Ekspresi IL-6	77



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

%	: Persen
µl	: microliter
ANOVA	: <i>analysis of variance</i>
b/v	: berat per volume
BB	: Berat Badan
BNJ	: Beda Nyata Jujur
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
C	: Celcius
C ₃ H ₄ O ₂	: Malondialdehid
Cat	: Katalase
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
DAB	: <i>Diamino Benzidine</i>
EDTA	: <i>ethylene diamine tetra acetic acid</i>
H ₂ O ₂	: Hidrogen
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
HCl	: Hidro Klorida
mL	: Mililiter
mL/kgBB	: milliliter per kilo gram berat badan
NaCl	: Natrium klorida
Na-Thio	: Natrium Thiosulfat
nm	: nanometer
O ₂	: Oksigen
O ₂ ⁻	: anion superoksida
O ₂	: oksigen
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PUFA	: <i>Poly-Unsaturated Fatty Acid</i>
PUFAs	: <i>polyunsaturated fatty acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	: <i>rotation per minutes</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCA	: <i>Trichloroacetic Acid</i>
°	: D

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Iklim tropis di Indonesia menyebabkan suburnya perkembangbiakan nyamuk sehingga menyebabkan Indonesia menjadi salah satu pasar potensial dalam memasarkan produk pembunuh nyamuk atau obat nyamuk, khususnya obat nyamuk bakar karena hampir setiap rumah tangga memanfaatkan obat nyamuk untuk mengatasi gangguan nyamuk dengan pemakaian terbanyak terutama pada musim pancaroba, yang di tengarai banyak berkembang nyamuk (Wahjuni, 2011). Berdasarkan hasil survey Hazel (2013) proporsi dalam upaya pencegahan gigitan nyamuk dimasyarakat dengan menggunakan obat nyamuk bakar (48,4%), penggunaan kelambu (25,9%), repelen (16,9%), insektisida (12,2%), dan kasa nyamuk (8,0%). Penggunaan obat nyamuk bakar dapat mengeluarkan partikel yang melebihi standar kualitas udara sehat yang beresiko terhadap penyakit pernafasan baik akut maupun kronis (Becker *et al.*, 2010). Beberapa negara meliputi Amerika, Malaysia, Singapura, dan Thailand sudah melarang penggunaan obat nyamuk bakar di lingkungan rumah tangga sangat berbahaya karena pengaruh buruk bahan aktif dalam obat nyamuk ini tidak hilang dan terus menetap dalam tubuh baik manusia maupun pada hewan (Nuril, 2003; Liu *et al.*, 1987).

Obat nyamuk berbahaya bagi manusia karena kandungan bahan aktif yang termasuk golongan organofosfor dan karbamat meliputi *dichlorovynil dimethyl fosfat* (DDVP), *propoksur* (karbamat), *d-allethrin* dan *transflutrin* yang

merupakan jenis insektisida pembunuh serangga (Rahayuningsih, 2010). *D-allevethrin* masuk ke dalam tubuh secara inhalasi akan menyebabkan gangguan pada paru-paru seperti iritasi juga akan menyebabkan hati tidak mampu untuk melakukan detoksifikasi secara sempurna (Iswara, 2009; Wulan, 2010).

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan (Dawn dkk., 2000). Asap mengandung radikal bebas yang sangat tinggi, dalam satu hisapan diperkirakan sebanyak 10 molekul radikal (Yueniwati dan Mulyohadi, 2004). Radikal bebas tersebut dapat memicu kerusakan sel pada alat pernafasan, baik trakea dan pulmo (Dellmann and Brown, 2012). Bahan aktif yang berupa *D-allevethrin* dapat dengan cepat diserap oleh paru-paru sehingga dapat menyebabkan kerusakan serius pada hidung, tenggorokan dan jaringan paru-paru meliputi alveolus apabila terhirup dengan jumlah yang cukup dan dalam waktu yang lama (Iswara, 2009). Peningkatan radikal bebas secara signifikan akan berdampak pada alveolus, Hal ini ditandai dengan peningkatan produksi sitokin proinflamasi, salah satunya ialah IL-6 sehingga menyebabkan perubahan pada gambaran histopatologi alveolus (Liedtke *et al.*, 2013). Sehingga diperlukan antioksidan eksogenus dalam menyeimbangkan peningkatan radikal bebas didalam tubuh (Eisenbarth dkk., 2002).

Buah semangka (*Citrullus lanatus*) merupakan buah dengan komoditas tinggi di daerah tropis yang dikonsumsi pada daging buah berwarna mencolok yang banyak mengandung zat-zat yang bermanfaat bagi kesehatan diantaranya antioksidan (Dianing, 2012). Semangka mengandung air sebanyak 93,4%,

protein 0,5%, karbohidrat 5,3%, lemak 0,1%, serat 0,2%, dan berbagai macam vitamin (A, B, dan C), antioksidan (likopen) dan asam amino (*citrulline* dan *arginine*) (Made, 2016). Komponen makromolekul didalam buah semangka memiliki fungsi yang beragam, meliputi protein berfungsi sebagai zat pembangun dan katalisator metabolisme pada tubuh, karbohidrat sebagai sumber energi utama tubuh, lemak sebagai sumber energi cadangan didalam tubuh, serat sebagai perangsang aktivitas usus dalam mengeluarkan kotoran, dan vitamin berperan sebagai nutrisi untuk menjaga homeostasis tubuh (Rahayu, 2009). Kadar antioksidan yang tinggi pada semangka jika dibandingkan dengan buah dan sayuran yang lain, dapat diandalkan sebagai penetral radikal bebas dan mengurangi kerusakan sel dalam tubuh (Rochmatika, 2012). Antioksidan sebagai penangkal radikal bebas yang terkandung dalam buah semangka adalah likopen (Andri, 2016). Pada buah semangka memiliki kadar likopen sebesar 21,49%, sedangkan pada kulit putih memiliki kadar likopen sebesar 0,502% (Dianing, 2012). Kemampuan likopen dalam mengendalikan radikal bebas 100 kali lebih efisien dari pada vitamin E atau 12.500 kali dari pada glutathione (Maulida, 2011). Hal tersebut menjadikan semangka berpotensi sebagai kandidat sumber antioksidan yang baik.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) dan gambaran histopatologi pada alveolus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Asap Obat Nyamuk dalam upaya

mencegah peningkatan ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) dan mencegah perubahan gambaran histopatologi pada alveolus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap obat nyamuk.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat mencegah peningkatan ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) pada alveolus tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan obat nyamuk?
2. Apakah pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat mencegah kerusakan histopatologi pada alveolus tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan obat nyamuk?

1.3 Batasan Masalah

Beberapa batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar umur 2 bulan dengan berat 150-200 gram yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Penggunaan tikus dalam proses mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian UB.
2. Buah semangka (*Citrullus lanatus*) yang digunakan dengan kualitas A (Berat ≥ 4 kg) dengan umur panen 55-60 hari (Efrizal, 2011; Syah, 2016). Ekstraksi

buah semangka dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 96% dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Materia Medica, Batu.

3. Ekstrak etanol buah semangka diberikan secara per oral dengan sonde selama 20 hari (Muthia, 2017).
4. Dosis preventif ekstrak buah semangka yang diberikan yaitu 25 mg/KgBB/hari (P1), 50 mg/KgBB/hari (P2) dan 100 mg/KgBB/hari (P3) selama 20 hari (Muthia, 2017).
5. Pemaparan asap obat nyamuk dengan menggunakan obat nyamuk dengan kandungan *d-allethrin* 0,25% selama 4 jam perhari selama 20 hari untuk perlakuan pemaparan akut kepada setiap kelompok tikus pelakuan I, II, III, dan kontrol positif. Pemaparan dilakukan dalam kandang transparan berbahan plastik dengan ukuran panjang sebesar 30 cm, lebar sebesar 45 cm, dan tinggi sebesar 20 cm. Kapasitas kandang maksimal 4 ekor tikus (Putri, 2015; Arifin, 2014).
6. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah ekspresi IL-6 pada jaringan alveolus menggunakan metode Imunohistokimia dan gambaran histopatologi alveolus menggunakan pewarnaan *Hematoksilin Eosin* (HE).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasar latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dalam mencegah peningkatan ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan obat nyamuk.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dalam mencegah kerusakan histopatologi pada alveolus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan obat nyamuk.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dalam kajian ilmiah tentang manfaat dari ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) terhadap ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) dan gambaran histopatologi pada alveolus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan obat nyamuk.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Nyamuk

Kejadian penyakit yang disebabkan oleh nyamuk semakin meningkat, termasuk di Indonesia yang mempunyai iklim tropis, karena daerah beriklim tropis merupakan tempat yang cocok untuk nyamuk berkembang biak (Almahdy, 2014). Usaha-usaha yang telah dilakukan masyarakat untuk penanggulangan nyamuk tersebut salah satunya yaitu dengan pemakaian obat anti nyamuk, yang tentunya mengandung insektisida beberapa senyawa kimia (Liu *et al.*, 2003). Insektisida merupakan salah satu golongan dari pestisida, dimana pestisida adalah bagian dari zat toksik yang berbahaya bagi tubuh (Hayes, 2001).

Saat ini terdapat begitu banyak pilihan bentuk obat nyamuk yang ada di pasaran, antara lain bentuk semprot, bakar, oles maupun elektrik (Rahayuningsih, 2010). Perbedaan terletak pada kemasan dan konsentrasi bahan aktif atau zat racunnya (Almahdy, 2014). Obat anti nyamuk banyak beredar di pasaran dan harga anti nyamuk bakar relatif murah, dari hasil penelitian pemilihan jenis anti nyamuk yang banyak digunakan dalam rumah tangga adalah jenis bakar (54%) dan jenis semprot (19%) (Amelia, 2015). Obat nyamuk bakar merupakan salah satu formula yang berbentuk coil, yang penggunaannya dengan dibakar agar menghasilkan asap untuk membunuh nyamuk, yang banyak digunakan dalam lingkungan rumah tangga dengan sengaja (Rahayuningsih, 2010).

2.1.1 Kandungan Obat Nyamuk

Peningkatan penggunaan obat nyamuk yang memiliki kandungan bahan kimia dalam kehidupan sehari-hari semakin meningkatkan resiko akibat paparan terhadap tubuh (Fariz, 2014). Bahan aktif yang terkandung pada setiap obat nyamuk bermacam-macam (Dhari, 2015). Bahan aktif dari obat nyamuk bakar meliputi *transflutrin*, *s-bioaletrin*, *metoflutrin*, *d-alletrin* (Ismail, 2009).

D-allethrin adalah salah satu bahan aktif pada beberapa jenis/merek obat anti nyamuk yang memiliki rumus molekul $C_{19}H_{26}O_3$ dan memiliki 8 stereoisomer. Jika masuk ke tubuh secara inhalasi dalam waktu lama dapat menyebabkan gangguan pada paru-paru juga akan menyebabkan hati tidak mampu melakukan detoksifikasi secara sempurna sehingga munculnya metabolit sekunder yang bertindak sebagai radikal bebas. Selanjutnya radikal bebas akan menuju peredaran darah menuju ke seluruh tubuh (Wulan, 2010). Kandungan radikal bebas yang sangat tinggi, dalam satu hisapan diperkirakan sebanyak 10 molekul radikal (Yueniwati dan Mulyohadi, 2004).

Obat nyamuk memiliki tiga komponen meliputi formulasi, bahan aktif dan konsentrasi bahan aktif; formulasi adalah wujud atau hasil proses pengolahan bahan teknis, bahan aktif adalah bahan kimia bersifat insektisida dan konsentrasi bahan aktif adalah kandungan bahan aktif suatu insektisida (Sigit dan Hadi, 2006). Berbagai macam merk obat nyamuk yang beredar di supermarket meliputi Baygon®, Bagus® dan Tigaroda® yang memiliki bahan aktif *d-allethrin* dengan konsentrasi berturut-turut 0,1%, 0,20% dan 0,25% (Arum, 2011).

2.1.2 Bahaya paparan obat nyamuk

Pencemar udara biasanya berbentuk partikel (debu atau aerosol) dan gas (CO, NO₂, SO₂ dan hidrokarbon), tergantung dari macam, ukuran, dan komposisi kimianya (Liu *et al.*, 2003). Udara yang tercemar oleh partikel dan gas dapat menimbulkan gangguan kesehatan yang tingkat dan jenisnya berbeda-beda. Penyakit yang ditimbulkan oleh pencemaran udara antara lain penyakit pernafasan, asma, penyakit kardiovaskuler, kanker, paru-paru, dan dapat menimbulkan gangguan pada janin (Sunarto, 2002). Risiko terbesar terdapat pada obat nyamuk bakar akibat asapnya yang dapat terhirup karena bahan aktif yang dipakai dalam obat nyamuk adalah yang cepat terurai dan berdaya racun tinggi, atau dapat mematikan nyamuk dengan cepat dan seberapa jauh dampaknya tergantung pada jenis, jumlah, usia dan bahan campurannya (*Environment Pesticide Agricultural*, 2002). Penggunaan obat nyamuk bakar dapat menghasilkan asap yang mudah dihirup oleh pernafasan berupa polutan yang dapat melebihi dari kualitas udara sehat yang berbahaya bagi kesehatan baik akut maupun kronis (Becker *et al.*, 2010). Bahan aktif dapat dengan cepat diserap oleh paru-paru sehingga dapat menyebabkan kerusakan serius pada hidung, tenggorokan dan jaringan paru-paru meliputi alveolus apabila terhirup dengan jumlah yang cukup dan dalam waktu yang lama (Iswara, 2009). Pemaparan asap obat nyamuk selama 7 jam perhari dalam 20 hari untuk perlakuan dapat menyebabkan gangguan pernafasan yang bersifat akut (Wahjuni, 2011).

Paparan asap anti nyamuk mengandung bahan kimia aktif yang merupakan salah satu faktor peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh (Dellmann & Brown,

2012). Radikal bebas (Latin: radicalis) merupakan molekul yang memiliki sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas adalah bentuk radikal yang sangat reaktif dan mempunyai waktu paruh yang sangat pendek. Jika radikal bebas tidak diinaktivasi, reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat (Dawn dkk., 2000).

Peningkatan radikal bebas secara signifikan akan ditandai dengan peningkatan kadar *reactive oxygen species* (ROS) dan produksi sitokin proinflamasi, salah satunya ialah IL-6 dan perubahan pada pengamatan histopatologi pada alveolus (Liedtke *et al.*, 2013). Radikal bebas yang akan berinteraksi dengan lipid dan protein pada membran sel, radikal bebas akan memicu reaksi peroksidasi dari asam polienoat yang terdapat pada retikulum endoplasma, reaksi ini akan menghasilkan radikal bebas baru yang akan memicu reaksi berantai. Peroksidasi lipid ini menyebabkan kerusakan struktur dan gangguan fungsi membran sel. Apabila jumlah radikal bebas yang dikonsumsi cukup banyak, maka akan terjadi peningkatan Ca^{2+} intraseluler yang berdampak pada kematian sel (Klaasen, 2001). Bahan aktif dalam obat nyamuk lebih aktif melepaskan hidrogen dari asam lemak rantai panjang tak jenuh (PUFAs) yang menyebabkan peroksidasi lipid dan terjadi kerusakan pada membran lipid dan protein serta menyebabkan penurunan antioksidan. Reaksi berantai oleh radikal bebas ini akan menimbulkan peningkatan stres peroksidatif yang mengakibatkan kerusakan sel. Kerusakan ini dapat dinetralkan oleh antioksidan dari luar (Kumar *et al.*, 2007). Peningkatan radikal bebas secara signifikan akan berdampak pada sel. Hal ini

ditandai dengan peningkatan produksi sitokin proinflamasi, salah satunya ialah IL-6 dan kerusakan pada gambaran histopatologi jaringan (Liedtke *et al.*, 2013).

Radikal bebas tersebut dapat memicu kerusakan sel pada alat pernafasan, baik trakea dan pulmo sehingga penyalur udara (rongga hidung, nasofaring, laring, trakhea, bronkhus dan bronkiolus) berfungsi menyalurkan udara pernafasan dari dan ke daerah pertukaran udara dalam paru-paru, mengatur kelembapan udara, menjaga suhu tubuh dan kandungan air pada saat proses respirasi dan menyaring partikel asing udara pernafasan tidak akan berfungsi dengan normal (Dellmann and Brown, 2012).

2.2 Alveolus

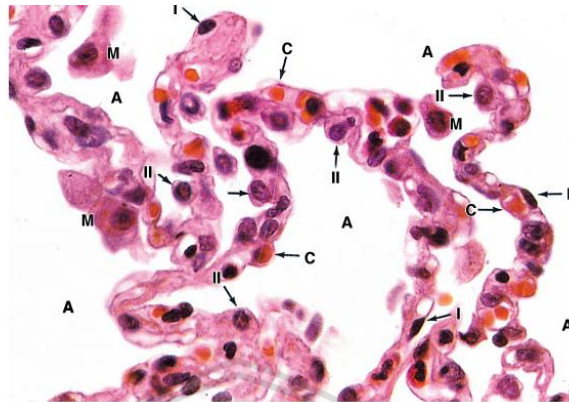
Proses pernafasan sangat penting untuk dapat mensuplai oksigen ke semua jaringan tubuh dan untuk mengeluarkan karbondioksida yang dihasilkan oleh darah melalui paru-paru (Brian, 2008). Paru-paru terletak di dalam rongga dada bagian atas, di bagian samping dibatasi oleh otot dan rusuk dan di bagian bawah dibatasi oleh diafragma yang berotot kuat (Arobi, 2010). Udara masuk ke paru-paru melalui sistem berupa pipa yang menyempit (bronchi dan bronkiolus) yang bercabang di kedua belah paru-paru utama (trachea). Pipa tersebut berakhir di gelembung-gelembung paru-paru (alveoli) (Hernawati, 2005).

Alveolus merupakan bagian dari paru-paru yang merupakan tempat proses pertukaran gas terjadi secara pasif yang ada di tiap kompartemen mitokondria dengan cara difusi (Setiadji, *et al.* 2008). Alveoli merupakan kantong kecil dan tipis yang melekat erat dengan lapisan pembuluh darah halus (kapiler) yang membawa darah yang bebas oksigen (*deoxgenated*) dari jantung (Hernawati,

2005). Terdapat 300 juta alveoli di dalam paru-paru yang bersifat elastis (Arobi, 2010). Dengan adanya alveolus, luas permukaan seluruh alveolus diperkirakan mencapai 100 kali lebih luas daripada luas permukaan tubuh. Dinding alveolus mengandung kapiler darah yang memungkinkan terjadinya difusi gas (Syamsuri, 2000).

Alveoli dilapisi sel alveolar tipe I (sel alveolar gepeng) yang berfungsi mengadakan sawar dengan ketebalan minimal yang dengan mudah dapat dilalui gas. Sel tipe II (sel alveolar besar) ditemukan di antara sel alveolar tipe I. Sel-sel ini mengandung badan berlamel yang menghasilkan materi yang menyebar di atas permukaan alveolus, memberi lapisan alveolar ekstraselular yang berfungsi menurunkan ketegangan pulmoner yaitu surfaktan pulmoner (Junqueira, 1995). Sel alveolar tipe I merupakan lapisan tipis yang menyebar menutupi lebih dari 90 persen daerah permukaan paru (Kirana, 2009).

Gambaran Histologi normal alveolus dapat dilihat pada **Gambar 2.2**, alveolus merupakan kantong-kantong kosong sebagai tempat pertukaran oksigen dan karbondioksida yang dibatasi oleh sekat atau dinding yang tersusun dari berbagai macam sel (A), terlihat kapiler pembuluh darah yang terdapat eritrosit dan leukosit (C), Sel alveolar tipe I sebagian besar berbentuk skuamosa (I), Sel alveolar tipe II memiliki bentuk bulat besar dan menonjol ke alveolus (II) dan terdapat makrofag yang berperan dalam sistem imunitas (M) (Junqueira, 2010).



Gambar 2.2 Gambaran Histologi alveolus, (A) Kantong Alveolus (C) Kapiler yang mengandung leukosit dan eritrosit (I) Alveolar tipe I (II) Alveolar tipe II (M) Makrofag (Junqueira, 2010).

2.3 Imunitas pada Paru-Paru

Sistem imun yang bertujuan melindungi tubuh dari serangan radikal bebas (antigen), sistem imun seluler yang berperan aktif adalah limfosit T yang menghasilkan sitokin. Imunitas seluler terdiri atas dua tipe reaksi yaitu fagositosis (oleh makrofag teraktivasi) dan sel terinfeksi (oleh limfosit T sitolitik) (Abbas, 2010). Antigen yang masuk ke alveoli ditelan oleh makrofag dan sering dihancurkan oleh makrofag alveola dan sebagian antigen akan tetap bertahan hidup di phagosome kemudian menuju plasma sel (Made, 2012).

Secara imunologis, sel makrofag dibedakan menjadi makrofag normal dan makrofag teraktivasi. Makrofag normal berperan pada pembangkitan daya tahan imunologis nonspesifik, dilengkapi dengan kemampuan bakterisidal atau bakteriostatik terbatas. Makrofag ini berperan pada daya tahan imunologis bawaan (*innate resistance*), sedang makrofag teraktivasi mempunyai kemampuan bakterisidal atau bakteriostatik sangat kuat yang merupakan hasil aktivasi sel T sebagai bagian

dari respons imun spesifik (*acquired resistance*) (Abbas, 2010). Di alveolus makrofag merupakan komponen sel fagosit yang paling aktif memfagosit partikel atau mikroorganisme, kemampuan untuk menghancurkan mikroorganisme terjadi karena sel ini mempunyai sejumlah lisozim di dalam sitoplasma. Selain bertindak sebagai sel fagosit, makrofag juga dapat mengeluarkan beberapa bahan yang berguna untuk menarik dan mengaktifkan neutrofil serta bekerja sama dengan limfosit dalam reaksi inflamasi (Wade, 2005).

Sel T adalah mediator utama pertahanan imun melawan antigen (Martha, 2013). Sel T lebih berperan pada proses inflamasi kronis, membunuh bakteri secara intrasel, dan juga merupakan *antigen-presenting cells* (APC) yang menangkap dan memproses antigen (Gede, 2010). Secara imunofenotipik sel T terdiri dari limfosit T helper, disebut juga *clusters of differentiation 4* (CD4) karena mempunyai molekul $CD4^+$ pada permukaannya, Sebagian kecil lainnya berupa limfosit T supresor atau sitotoksik, mempunyai molekul $CD8^+$ pada permukaannya dan sering juga disebut CD8 (Martha, 2013). Sel T *helper* (CD4) berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel T *helper* 1 (Th1) dan sel T *helper* 2 (Th2) (Subagyo, 2011; Tew, 2006).

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh (Winarti, 2010). Jika radikal bebas tidak diinaktivasi,

reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler dan asam nukleat (Dawn dkk., 2000).

Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal yang disebut ROS (reactive oxygen species), yang terdapat dalam bentuk singlet oxygen ($^1\text{O}_2^*$), anion superoksida (O_2^*), radikal hidroksil (OH^*), nitrogen oksida (NO^*), peroksinitrit (ONOO^-), asam hipoklorus (HOCl), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoxy (LO^*), dan radikal peroksil (LO_2^*). Radikal bebas yang mengandung karbon (CCL_3^-) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H (H^-). Bentuk lain adalah radikal yang mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi 4-glutation menghasilkan radikal thiyl (R-S^\cdot). Radikal yang mengandung nitrogen juga ditemukan, misalnya radikal fenyldiazine (Halliwell dan Whiteman, 2004; Proctor, 1984 dan Araujo *et al.*, 1998).

Menurut Gitawati (1995) radikal bebas bersifat sangat reaktif sehingga dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, lipid dan nukleotida. Kerusakan sel oleh radikal bebas didahului oleh kerusakan membran sel dengan proses sebagai berikut:

- a) Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran, sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor
- b) Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transpor lintas membran terganggu

- c) Reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA).

Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berpengaruh langsung terhadap kerusakan membran sel antara lain struktur dan fungsi dalam keadaan yang lebih ekstrim yang akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Gitawati, 1995).

2.5 Interleukin-6 (IL-6)

Sitokin adalah mediator (berupa protein atau glikoprotein dengan berat molekul 8-80kDa) yang dihasilkan oleh sel dalam reaksi radang atau imunologik yang berfungsi sebagai isyarat antara sel-sel untuk membentuk jaringan komunikasi dalam respon imun. Yang termasuk dalam sitokin adalah berbagai interleukin (IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, IL-13), interferon (IFN α , β , dan γ), faktor nekrosis tumor (tumour necrosis factor, TNF), faktor perangsang koloni (*colony stimulating factor*, CSF), faktor pertumbuhan (*growth factor*), dan khemokin (sitokin khemotaktik) (Ishartadiati, 2008).

Sitokin IL-6 merupakan sitokin pro inflamasi yang diproduksi fagosit mononuklear, sel endotel vaskular, fibroblas, dan sel lain sebagai respons terhadap mikroba dan sitokin lain. Dalam imunitas nonspesifik, IL-6 merangsang hepatosit untuk memproduksi APP dan bersama CSF merangsang progenitor di sumsum tulang untuk memproduksi neutrofil. Dalam imunitas spesifik, IL-6 merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel B menjadi sel mast yang memproduksi antibodi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013). Interleukin 6 mengatur proses inflamasi selama perbaikan jaringan dalam respon kekebalan serta metabolisme. Interleukin ini

mempromosikan diferensiasi sel B menjadi sel plasma, mengaktivasi sel T sitotoksik serta mengatur homeostasis, merupakan *endogenous pyrogen* yang menstimulasi demam dan produksi protein pada fase akut. Sinyal yang ditimbulkan oleh IL-6 menyebabkan rekrutmen monosit ke daerah inflamasi (Hewajuli, 2016).

2.6 Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)

Buah semangka (*Citrullus lanatus*) pada **Gambar 2.3** merupakan salah satu tanaman penghasil buah yang banyak terdapat di Indonesia dengan panen semangka mencapai 468 ton per tahun di daerah sulawesi tengah (Riasman, 2012). Semangka merupakan tanaman buah berupa herba yang berasal dari daerah kering tropis dan subtropis Afrika, kemudian berkembang dengan pesat ke berbagai negara meliputi Afrika Selatan, Cina, Jepang, dan Indonesia (Arifianto, 2009). Sentra penanaman di Indonesia terdapat di Jawa Tengah (D.I. Yogyakarta, Kabupaten Magelang dan Kabupaten Kulonprogo); di Jawa Barat (Indramayu dan Karawang); di Jawa Timur (Banyuwangi dan Malang); dan di Lampung (Wahyudi, 2015). Buah semangka dapat diolah menjadi suatu produk agar tetap dapat dikonsumsi dan dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki banyak kandungan yang berguna untuk kesehatan (Pita, 2007).



Gambar 2.3 Buah Semangka (*Citrullus lanatus*)
(Oktavia, 2015).

Klasifikasi taksonomi tanaman semangka menurut *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS) dalam Made (2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Viridaeplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Infradivisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Rosanae
Ordo	: Curcubitales
Famili	: Cucurbitaceae
Genus	: <i>Citrullus</i>
Spesies	: <i>Citrullus lanatus</i>

2.6.1 Morfologi Buah Semangka

Semangka tersedia dalam banyak bentuk, warna dan bermacam-macam ukuran dan bentuknya bervariasi mulai dari bulat hingga lonjong, dengan warna-warna yang berbeda mulai hijau muda hingga kehitaman (Wahyudi, 2015). Warna kulit buah dapat mulus, bergaris-garis atau berbercak-bercak serta warna daging buah ada yang kuning, merah jambu, merah cerah ataupun merah tua dan terdapat pula semangka berbiji maupun semangka tanpa biji (Gordon, 2007). Terdapat dua varietas memiliki warna daging buah kuning dan varietas lainnya memiliki daging buah merah yang paling banyak dimanfaatkan (Wahyudi, 2015).

Buah semangka merupakan jenis khusus dari buah yang dikenal oleh ahli botani sebagai *pepo*, yaitu suatu *berry* yang memiliki kulit tebal (*eksokarp*) dan pusat daging (*mesokarp dan endokarp*). Semangka adalah salah satu buah yang kurang banyak dimanfaatkan dan buah ini ditanam di bagian hangat dunia (Oseni dan Okoye, 2013).

Varietas semangka unggul yang diinginkan pasar, diantaranya memiliki ukuran buah sesuai dengan permintaan pasar yang digolongkan dalam beberapa kelas, yaitu kelas A (bobot buah 4 kg ke atas), kelas B (bobot buah 2-4 kg), kelas C (bobot buah kurang dari 2 kg) (Wahyudi, 2015)

2.6.2 Kandungan Buah Semangka

Buah semangka banyak mengandung air, kandungan lainnya adalah protein, karbohidrat, lemak, serat, abu dan vitamin (A, B dan C) juga mengandung asam

amino, sirulin, asam aminoasetat, asam malat, asam fosfat, arginine, betain, likopen, karoten, bromine, natrium, kalium, silvit, lisin, fruktosa, dekstrosa dan sukrosa. Warna merah pada semangka menandakan tingginya kadar likopen, salah satu komponen karotenoid seperti halnya betakaroten (Nuril, 2012). Pada kulit putih semangka didapatkan isolat likopen sebesar 0,018 % dengan kadar likopen 0,502 % sedangkan pada daging buah semangka didapatkan isolat likopen sebesar 0,054 % dengan kadar likopen sebesar 21,49 % (Dianing, 2012).

Warna daging buah disebabkan oleh adanya kandungan pigmen terutama pigmen dari kelompok karotenoid, yakni likopen. Menurut Suhanda (2009) buah semangka mengandung likopen relatif lebih tinggi dibandingkan dengan buah tomat, bahkan terindikasi merupakan buah penghasil likopen tertinggi. Semangka mengandung likopen 6 ppm, sedangkan tomat mengandung likopen antara 3–5 ppm (Wenli *et al.*, 2001; Sunarmani, 2008). Menurut Novita (2010) jika dibandingkan dengan buah dan sayuran lainnya semangka memiliki kandungan likopen yang paling tinggi, yang dapat dilihat dari **Tabel 2.1**. Semangka mengandung air sebanyak 93,4%, protein 0,5%, karbohidrat 5,3%, lemak 0,1%, serat 0,2%, dan berbagai macam vitamin (A, B, dan C), antioksidan (likopen) dan asam amino (*citrulline* dan *arginine*) (Made, 2016). Komponen makromolekul didalam buah semangka memiliki fungsi yang beragam, meliputi protein berfungsi sebagai zat pembangun dan katalisator metabolisme pada tubuh, karbohidrat sebagai sumber energi utama tubuh, lemak sebagai sumber energi cadangan didalam tubuh, serat sebagai

perangsang aktivitas usus dalam mengeluarkan kotoran, dan vitamin berperan sebagai nutrisi untuk menjaga homeostasis tubuh (Rahayu, 2009).

Tabel 2.1 Kandungan likopen pada buah dan sayuran

Buah dan Sayuran	Likopen ($\mu\text{g/g}$)
Tomat	8,8-42,0
Semangka	23,0-72,0
Jambu Merah	54,0
Anggur Merah	33,6
Pepaya	20,0-53,0
Aprikot	< 0,1

Likopen adalah salah satu pigmen alami yang disintesis oleh tumbuhan tingkat tinggi dan mikroorganisme, tetapi tidak oleh hewan (Novita, 2010). Likopen dalam industri pangan digunakan sebagai pewarna alami yang selain berfungsi sebagai pewarna, juga berfungsi sebagai antioksidan (Koski *et al.*, 2002; Israwati, 2009).

2.6.3 Potensi Buah Semangka sebagai Antioksidan

Likopen atau yang sering disebut sebagai α -karoten adalah suatu karotenoid pigmen merah terang yang sangat dibutuhkan oleh tubuh yang merupakan salah satu antioksidan yang sangat kuat (wikipedia, 2013). Kemampuannya mengendalikan radikal bebas 100 kali lebih efisien dari pada vitamin E atau 12.500 kali dari pada glutathion (Maulida, 2010).

Likopen mempunyai aktivitas antioksidan yang ampuh. Likopen dapat mencegah rusaknya sel-sel akibat radikal bebas (Novita, 2010). Antioksidan merupakan

senyawa pemberi elektron (electron donor) atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil, namun mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Antioksidan dapat menetralkan atau menghancurkan radikal bebas dengan cara berinteraksi langsung dengan oksidan atau radikal bebas, mencegah pembentukan jenis oksigen reaktif, mengubah oksigen reaktif menjadi kurang toksik dan memperbaiki kerusakan yang timbul, Antioksidan bekerja sebagai sebuah sistem untuk menghentikan kerusakan akibat radikal bebas (Sizer and Whitney, 2000).

Radikal bebas dapat berasal dari dalam (endogen) dan luar (eksogen) tubuh seperti: sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein atau karbohidrat dan lemak yang kita konsumsi, polusi udara meliputi asap kendaraan bermotor, asap rokok, asap obat nyamuk, berbagai bahan kimia, makanan yang terlalu hangus (carbonated) dan lain sebagainya. Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh akan merusak beberapa target seperti lemak, protein, karbohidrat (Novita, 2010).

Beberapa studi *in vitro* menunjukkan bahwa likopen memiliki aktivitas antioksidan yang berfungsi sebagai pelindung dari efek kerusakan radikal bebas (Agarwal dan Rao, 2000). *Inhibition Concentration 50* (IC50) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50 % DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan penghambatan 50 %. Zat yang mempunyai antioksidan tinggi, akan mempunyai nilai IC50 yang rendah (Brand-Williams, 1995 dalam Satiti 2012). Kulit putih dan daging buah semangka

memiliki nilai IC50 masing-masing sebesar 55,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 26,00 $\mu\text{g/mL}$, nilai ini menunjukkan bahwa baik bagian kulit putih maupun daging buah semangka memiliki aktivitas antioksidan yang aktif karena memiliki nilai IC50 kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$ (Dianing, 2012).

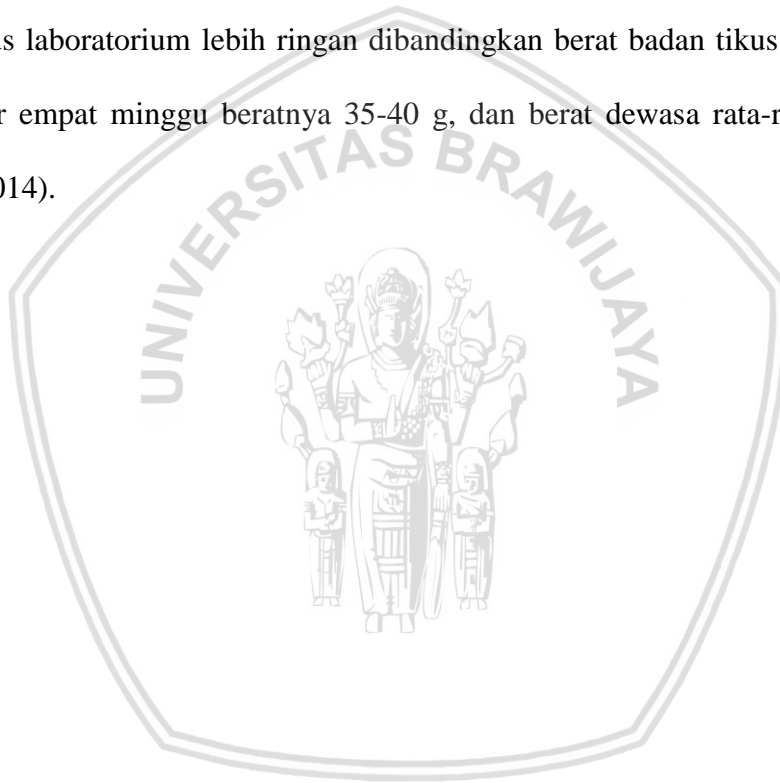
2.7 Hewan Coba

Hewan percobaan biasanya digunakan sebagai media dalam penelitian atau pengamatan laboratorik untuk mempelajari serta mengembangkan ilmu pengetahuan. Tikus merupakan hewan yang umum digunakan dalam penelitian, karena dalam pemeliharaannya yang mudah, serta secara garis besar fungsi, bentuk organ dan proses biokimianya anatar tikus dan manusia memiliki banyak kesamaan. Tikus putih (*Rattus novergicus*) ini memiliki ciri antara lain rambut tubuh berwarna putih dan mata yang merah, panjang tubuh 440 mm, panjang ekor 205 mm (Suckow *et al.*, 2006).

Berikut klasifikasi tikus putih (*Rattus novergicus*) menurut Armitage (2004), adalah sebagai berikut:

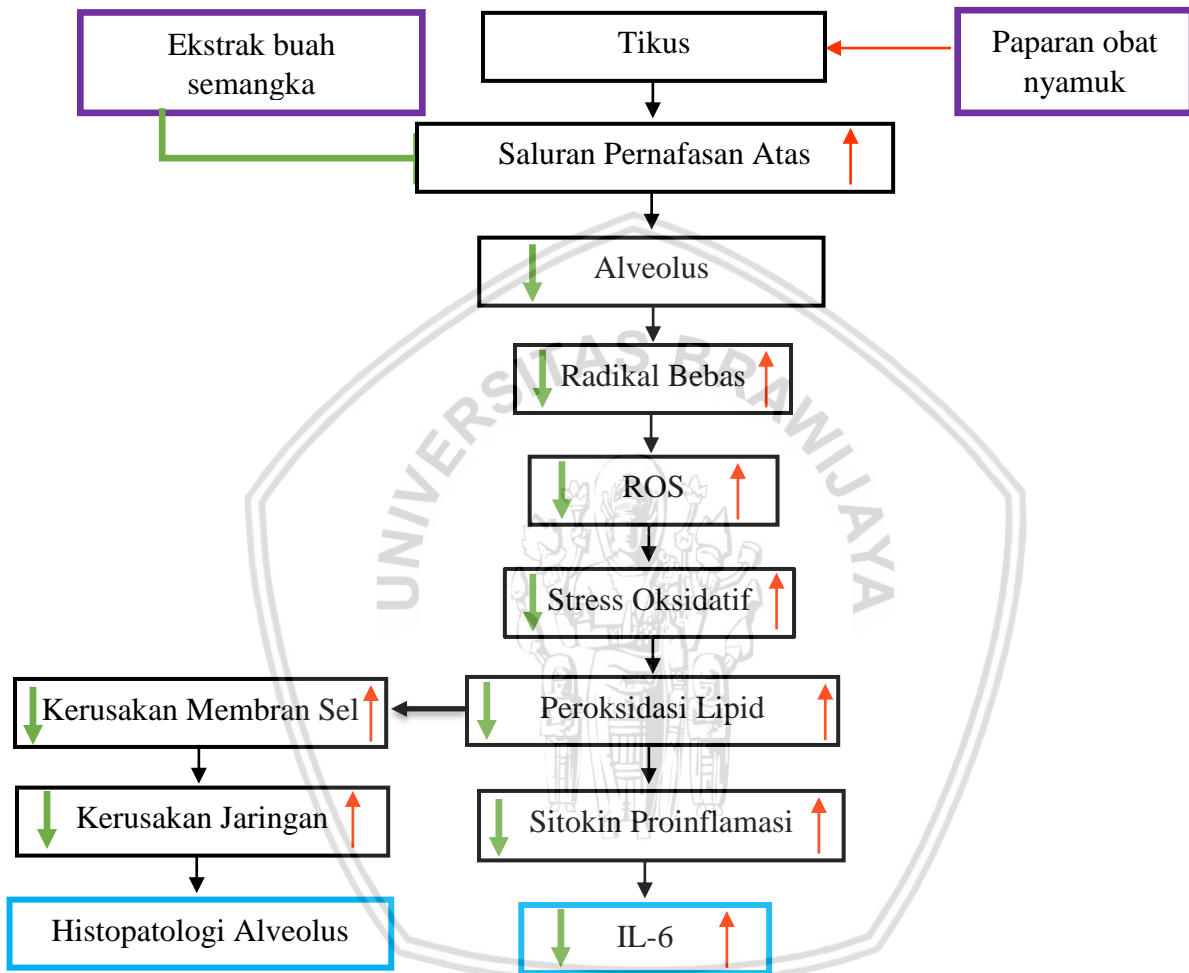
Kingdom	: <i>Animalia</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Keunggulan tikus putih dibandingkan tikus liar antara lain lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Kelebihan lainnya sebagai hewan laboratorium adalah sangat mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan. Secara umum, berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Biasanya pada umur empat minggu beratnya 35-40 g, dan berat dewasa rata-rata 200-250 g (Maula, 2014).



BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

Keterangan:

- ↑ = Pengaruh paparan obat nyamuk
- ↑ = Pengaruh pemberian ekstrak buah semangka
- ⊥ = Penghambatan oleh ekstrak buah semangka
- ↓ = Perlakuan
- = Variabel yang diamati
- = Variabel Bebas

Asap obat nyamuk dapat menyebabkan kerusakan paru-paru karena pembakaran dari obat nyamuk menghasilkan senyawa-senyawa yang dilepaskan ke udara dan dihirup oleh pernafasan berupa senyawa CO₂, H₂O₂, NO, SO₂, dan CO serta senyawa-senyawa kimia dari obat nyamuk itu sendiri berupa *transflutrin*, *s-bioaletrin*, *metoflutrin*, *d-alletrin*. *d-allethrin* merupakan senyawa yang bersifat radikal serta berbahaya bagi pernafasan.

Paparan asap obat nyamuk masuk kedalam tubuh melalui saluran pernafasan bagian atas menuju alveolus. Kandungan obat nyamuk berupa *d-allethrin* merupakan radikal bebas yang akan bereaksi dengan oksigen membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang dapat menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan antara ketersediaan antioksidan yang kurang memadai dengan jumlah radikal bebas berupa *d-allethrin* yang melebihi kapasitas normal akibat paparan obat nyamuk yang berlebihan. Stress oksidatif memegang peranan penting terhadap terjadinya kerusakan histologis paru, kerusakan fungsi paru, dan perkembangannya menjadi penyakit paru obstruktif kronis. Kondisi ini diawali dengan asap obat nyamuk mengandung senyawa radikal bebas akan bereaksi dengan oksigen menjadi *reactive oxygen species* (ROS). *Reactive oxygen species* (ROS) dari asap obat nyamuk yang dapat melebihi jumlah antioksidan endogen sehingga akan menimbulkan terjadinya stress oksidatif dan mengakibatkan kerusakan sel. Upaya untuk menyeimbangkan peningkatan radikal bebas, diperlukan antioksidan eksogenus agar senyawa yang bersifat radikal dapat

menjadi senyawa yang tidak radikal, sehingga dapat menurunkan stress oksidatif dan memperbaiki kerusakan sel.

Radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh juga dapat menyebabkan peroksidasi lipid, yaitu ikatan radikal bebas bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh (PUFAs) penyusun membran sel yang terdapat pada membran fosfolipid bilayer. Peroksidasi lipid tersebut akan mengakibatkan gangguan fisiologis pada membran sel alveolar berupa terganggunya transport zat antara intraseluler dan ekstraseluler, menonaktifkan ikatan membran dengan reseptor atau enzim yang dapat mengganggu fungsi normal sel sehingga sel tidak memberikan merespon terhadap rangsangan (ligan) dan mengakibatkan kerusakan sel.

Ikatan radikal bebas bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh (PUFAs) penyusun membran sel yang terdapat pada membran fosfolipid bilayer menyebabkan kerusakan membran sel alveolar, sehingga dapat memicu terjadinya aktivasi sel inflamasi, sehingga mengakibatkan pelepasan mediator inflamasi berupa sitokin meliputi interleukin 6 (IL-6), peningkatan IL-6 dapat dijadikan mediator untuk terjadinya kerusakan pada jaringan. Aktivitas inflamasi dan kondisi stres oksidatif secara progresif dan berkelanjutan karena jumlah radikal bebas yang meningkat didalam tubuh dapat menandai kerusakan jaringan yang nantinya akan mempengaruhi perubahan gambaran histopatologi pada sel-sel alveolus.

Kerusakan sel yang diakibatkan oleh radikal bebas dapat ditekan dengan pemberian antioksidan eksogenus. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (electron donor) atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil, namun mampu

menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Buah semangka (*Citrullus lanatus*) merupakan buah yang memiliki manfaat untuk obat. Kadar antioksidan berupa likopen dalam buah semangka lebih tinggi jika dibandingkan dengan buah dan sayuran lainnya sehingga dapat diandalkan sebagai penetral radikal bebas dan mengurangi kerusakan sel dalam tubuh. Dengan demikian, likopen yang terkandung dalam ekstrak etanol buah semangka dapat menghambat menurunkan ekspresi IL-6 dan memperbaiki gambaran histopatologi pada alveolus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap obat nyamuk.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat mencegah peningkatan ekspresi Interleukin-6 (IL-6) pada alveolus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan paparan obat nyamuk.
2. Pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat mencegah kerusakan histopatologi pada alveolus tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan paparan obat nyamuk.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017 hingga Desember 2017. Pelaksanaan penelitian terdiri atas beberapa tahapan meliputi tahapan ekstraksi etanol buah semangka (*Citrullus lanatus*) dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Materia Medica, Batu. Tahapan perawatan, perlakuan dan pembedahan hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas MIPA, Universitas Islam Negeri Malang (UIN). Pembuatan preparat, pewarnaan HE dan pengamatan dilaksanakan di Laboratorium Kesima, RSIA Malang. Pewarnaan IL-6 dengan metode Immunohistokimia dilaksanakan di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, timbangan analitik, labu evaporasi, *rotary evaporator*, *water bath*, botol vial, spuit 3 ml, sonde, sentrifugator, *vortex mixer*, blender, erlenmeyer, gelas ukur, pipet, pot, kandang tikus, *dissecting set*, *microtube*, *dehydarator autotechnicon*, *object glass* dan *cover glass*, mikroskop, mikrotom.

4.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah semangka (*Citrullus lanatus*), tikus putih (*Ratus novergicus*), obat nyamuk Bakar, Pakan standar, NaCl 0,9%, *phospat buffer saline*, *Aquadest*, *Fibrin bovine blood*, HCl, Etanol 96%, BSA, NaCl Fisiologis, PBS, formalin 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90% dan 95%), parafin, *xylol*, *eosin*, *conterstaning hematoxyline*, H_2O_2 , antibodi primer anti *mouse* IL-6, antibodi sekunder Rabbit anti-*mouse*, SA-HRP, DAB, entellan.

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Sampel Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar umur 2 bulan dengan berat 150-200 gram (Costandinou *et al.*, 2005). Hewan coba diadaptasikan selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Estimasi besar sampel dihitung berdasar rumus (Kusriningrum, 2008):

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

t: jumlah kelompok perlakuan

n: jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan diatas, maka untuk 5 macam kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

4.3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan *post-test control design only*. Rancangan penelitian ditunjukkan **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1 Rancangan penelitian dengan 5 kelompok perlakuan:

Kelompok	Keterangan Perlakuan
Kelompok negatif	Tikus tidak diberikan ekstrak etanol buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) dan tidak diberikan paparan obat nyamuk.
Kelompok positif	Tikus diberikan paparan obat nyamuk dengan <i>d-allethrin</i> 0,25% selama 4 jam perhari dalam waktu 20 hari.
Kelompok perlakuan 1	Tikus diberikan paparan obat nyamuk dengan <i>d-allethrin</i> 0,25% selama 7 jam perhari dalam waktu 20 hari dan diberikan ekstrak etanol buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) sebanyak 25 mg/kgBB dengan volume 4 ml per oral selama 20 hari.

Kelompok perlakuan 2	Tikus diberikan paparan obat nyamuk dengan <i>d-allethrin</i> 0,25% selama 4 jam perhari dalam waktu 20 hari dan diberikan ekstrak etanol buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) sebanyak 50 mg/kgBB dengan volume 2 ml per oral selama 20 hari.
Kelompok perlakuan 3	Tikus diberikan paparan obat nyamuk dengan <i>d-allethrin</i> 0,25% selama 4 jam perhari dalam waktu 20 hari dan diberikan ekstrak etanol buah semangka (<i>Citrullus lanatus</i>) sebanyak 100 mg/kgBB dengan volume 2 ml per oral selama 20 hari.

4.3.3 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- Variabel bebas : Dosis pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dan lama paparan asap obat nyamuk.
- Variabel tergantung : IL-6 dan gambaran histopatologi alveolus
- Variabel kendali : Tikus, jenis kelamin, berat badan, umur, pakan dan kondisi pemeliharaan.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba pada semua kelompok perlakuan dikandangkan secara terpisah dan diadaptasikan selama lebih kurang 7 hari. Selama penelitian tikus diberikan pakan standar dengan komposisi pada **Lampiran 1** dan minum secara *ad libitum*.

4.4.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Semangka

Prosedur pembuatan ekstrak etanol buah semangka dilakukan dengan tiga prosedur, yaitu pengeringan, ekstraksi, dan evaporasi. Proses pengeringan, buah semangka dicuci sampai bersih (sampel basah), kemudian dipanggang dalam oven dengan suhu 80°C atau dengan panas matahari sampai kering (bebas kandungan air). Pada proses ekstraksi, buah semangka dihaluskan dengan blender hingga menyerupai bubuk lalu ditimbang dengan timbangan analitik sebanyak 100 gram (sampel kering) kemudian dimasukkan ke dalam gelas ekstraksi/labu erlenmeyer ukuran 1 L dan direndam dalam etanol 96%, setelah itu dikocok sampai benar-benar tercampur (\pm 30 menit) dan kemudian diinapkan selama satu malam (12 jam) sampai mengendap. Dalam proses evaporasi, larutan yang telah diinapkan selama satu malam diambil lapisan atas dari hasil campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil kemudian dimasukkan dalam labu evaporasi 1L yang selanjutnya labu evaporasi dipasang pada evaporator dan diisi water bath dengan air sampai penuh. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (diatur sampai 90°C), disambungkan dengan alat listrik, selanjutnya dibiarkan sampai larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu (\pm 1,5–2

jam untuk 1 labu). Hasil sebelum penggunaan perlu dibiarkan terlebih dahulu agar suhu sama dengan suhu ruangan (Muthia, 2017)

4.4.3 Perlakuan Hewan Coba

Perlakuan awal pada hewan coba adalah dilakukannya aklimatisasi pada hari ke-1 sampai hari ke-7 dalam kandang pemeliharaan. Selanjutnya pada hari ke-8 sampai hari ke-27 diberi ekstrak etanol buah semangka sebagai antioksidan dan dilakukan pemaparan asap obat nyamuk menggunakan jenis obat nyamuk *d-allethrin* 0,25%. Paparan asap obat nyamuk bertujuan sebagai sumber radikal bebas sehingga dapat menyebabkan stres oksidatif yang dapat mempengaruhi MDA dan SOD. Asap obat nyamuk dihembuskan dengan smoking pump ke dalam kandang berbentuk kaca selama 7 jam/hari setiap kelompok dalam waktu 20 hari.

Penelitian ini menggunakan lima kelompok tikus secara acak. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol negatif (K-) dimana masing-masing tikus tidak diberi perlakuan apapun mulai dari hari pertama sampai dengan hari ke-27. Kelompok kedua adalah kelompok kontrol positif (K+) yang mulai hari ke-8 sampai hari ke-27 diberi paparan asap obat nyamuk selama 7 jam perhari, namun tidak diberikan ekstrak buah semangka. Kelompok ketiga adalah perlakuan 1 (P1), dalam satu kelompok diberi ekstrak etanol buah semangka sebanyak 25 mg/KgBB/hari secara peroral (PO) dan diberi paparan asap obat nyamuk selama 7 jam perhari pada hari ke-8 sampai hari ke-27. Kelompok keempat adalah perlakuan 2 (P2) yang diberi ekstrak etanol buah semangka sebanyak 50 mg/KgBB/hari secara peroral (PO) dan dilakukan pemaparan asap obat nyamuk selama 7 jam perhari pada hari

ke-8 sampai hari ke-27. Kelompok kelima adalah perlakuan 3 (P3) yang diberi ekstrak etanol buah semangka sebanyak 50 mg/KgBB/hari secara peroral (PO) dan dilakukan pemaparan asap obat nyamuk selama 7 jam perhari pada hari ke-8 sampai hari ke-28 (Muthia, 2017).

4.4.4 Isolasi Organ Paru-Paru

Euthanasi tikus dilakukan dengan dislokasi pada bagian leher, kemudian dilakukan pembedahan. Tikus diposisikan pada posisi rebah dorsal kemudian dilakukan nekropsi. Dibuat insisi pada ventral midline abdomen, kemudian insisi kulit dan subkutan ke arah kranial lalu insisi musculus daerah abdomen ke arah kranial. *Prosesus xiphoideus* diangkat kemudian dipotong beserta sternum hingga cavum thoraks terbuka. Organ paru-paru diisolasi dari cavum thorax kemudian dicuci dengan NaCl fisiologis 0,9% dan direndam pada larutan *Phosfat Buffer Saline* (PBS) dengan pH 7,4 dalam pot, diberi label lalu disimpan pada lemari pendingin.

4.4.5 Pembuatan Preparat Histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi alveolus terdiri dari beberapa proses yaitu;

a. Fiksasi

Jaringan hepar dimasukkan dalam larutan formalin 10% selama 18-24 jam. Setelah proses fiksasi, jaringan dimasukkan kedalam larutan aquades selama 1 jam yang berfungsi menghilangkan larutan fiksasi. Proses ini berfungsi sebagai pengawetan jaringan dan mempertahankan sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan bentuk ataupun ukuran.

b. Dehidrasi

Jaringan dimasukkan kedalam alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%) dengan menggunakan alat *dehydarator autotechnicon* selama 2 jam. Dehidrasi merupakan proses penarikan molekul air dari dalam jaringan dengan tujuan agar seluruh ruang antar sel dalam jaringan dapat diisi molekul parafin.

c. *Clearing*

Jaringan dimasukkan kedalam larutan *alkohol-xylol* selama 1 jam, kemudian larutan xylol murni selama 4 jam. Proses ini berfungsi menarik alkohol atau dehidran yang lain dari dalam jaringan agar dapat digantikan dengan molekul parafin. *Clearing* merupakan proses mentransparankan jaringan.

d. Impregnasi

Potongan jaringan dimasukkan kedalam parafin cair yang ditempatkan dalam inkubator bersuhu 58-60°C selama 2-3 jam. Proses ini merupakan pengeluaran xylol dari dalam jaringan yang akan digantikan parafin cair.

e. *Embedding*

Proses ini merupakan penanaman jaringan ke media parafin yang berfungsi untuk mempermudah melakukan proses pengirisan sampel. Potongan jaringan dalam parafin yang telah memadat kemudian dilakukan pemotongan dengan ketebalan 4 mikron dan ditempelkan pada object glass. Setelah itu dipanaskan dalam inkubator dengan suhu 60 °C hingga parafin mencair (Ashari, 2013).

4.4.6 Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE)

Pembuatan preparat histopatologi melalui proses fiksasi, dehidrasi, *cleaning*, *embedding*, *sectioning* dan penempelan pada *objek glass*, kemudian diwarnai dengan pewarna *Hematoxylin-Eosin* (HE) yang akan dianalisis dan disajikan secara deskriptif untuk melihat histopatologi hepar menggunakan mikroskop Olympus BX51 dengan perbesaran 400x (Arauna, 2013). Pewarnaan HE menggunakan 2 macam zat warna yaitu *hematoxyline* yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta *eosin* yang merupakan *counterstaining hematoxyline*, digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda (Baratawidjaya, 2006)

4.4.7 Pewarnaan IL-6 dengan Metode Immunohistokimia

Tahapan pewarnaan imunohistokimia diawali dengan perendaman slide preparat pada xylol I, xylol II, dan alkohol bertingkat (70%,80%,90%). Slide preparat kemudian dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 1x15 menit selanjutnya ditetesi dengan H₂O₂ selama 20 menit. Setelah itu dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan dibloking dengan 5% FBS (Fetal Bovine Serum) selama 1 jam. Kemudian, slide preparat dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan selanjutnya diinkubasi dengan antibodi primer *anti- mouse* IL-6 semalam pada suhu 4⁰C. Setelah inkubasi dengan antibodi primer dicuci dengan PBS Ph 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Selanjutnya ditambahkan

dengan antibodi sekunder *Rabbit anti-mouse IgG* berlabel *biotin* dan diinkubasi selama 1 jam dengan suhu ruang.

Slide preparat ditetesi dengan *Strep Avidin Horse Radish peroxidine* (SA-HRP) selama 40 menit. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Ditetesi dengan *Diamanobenzidine* (DAB) selama 10 menit. Dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali. Selanjutnya counterstaining menggunakan Mayer Hematoxylen selama 10 menit. Dicuci dengan air mengalir. Dibilas dengan aquades dan dikeringkan, lalu slide dimounting dengan entellan dan ditutup dengan cover glass.

Pengamatan ekspresi IL-6 dilakukan dengan mikroskop perbesaran 100x dengan lima bidang pandang pengamatan. Setelah itu hasil pengamatan difoto dan dianalisa menggunakan software *immuno ratio* untuk mengamati ekspresi IL-6 melalui pengukuran presentase area yang terwarnai (Ramos-Vara, 2005).

4.5 Analisa Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan analisa statistik kuantitatif untuk data persentase rata-rata ekspresi IL-6. Sedangkan data gambaran histopatologi paru-paru dianalisa secara deskriptif kualitatif. Data ekspresi IL-6 ditabulasi menggunakan *Microsoft Office Excel* kemudian dianalisa menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dengan *software SPSS 16 for Windows*. Analisa *one-way ANOVA* didahului dengan uji distribusi data, selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui data tersebut memiliki varian yang

sama atau tidak. Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *one-way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar kelompok perlakuan atau perbedaan secara keseluruhan atau kelompok perlakuan. Apabila hasil uji *one-way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$), maka dapat dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Tukey* (Beda Nyata Jujur) dengan α 5% (Kusriningrum, 2008).



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Kondisi Hewan Selama Pemaparan Asap Obat Nyamuk

D-allevethrin adalah salah satu bahan aktif pada beberapa jenis/merek obat anti nyamuk, yang merupakan radikal bebas bagi tubuh (Wulan, 2010). Jumlah kandungan radikal bebas yang masuk kedalam tubuh semakin banyak mampu menurunkan antioksidan endogenus didalam tubuh sebesar 10 molekul radikal bebas dalam satu hisapan sehingga diperlukan antioksidan eksogenus yang berupa sayuran atau buah-buahan (Yueniwati dan Mulyohadi, 2004). Pemaparan asap obat nyamuk bakar agar mendapatkan efek bagi tubuh, dilakukan selama 4 jam/hari selama 20 hari (Putri, 2015). Asap obat nyamuk dihembuskan dengan *smoking pump*.

Kondisi tikus selama pemaparan pada hari pertama sampai hari ke dua belas masih bergerak aktif pada pemaparan 2 jam pertama, kemudian 2 jam selanjutnya kondisi tikus lemas dan berkelompok pada salah satu ujung kotak *smoking pump*. Pada hari kedelapan sampai hari kedua puluh kondisi tikus pada paparan sudah lemas, sesak nafas (respirasi meningkat) dan berkelompok pada salah satu ujung kotak *smoking pump* (**Gambar 5.1**).



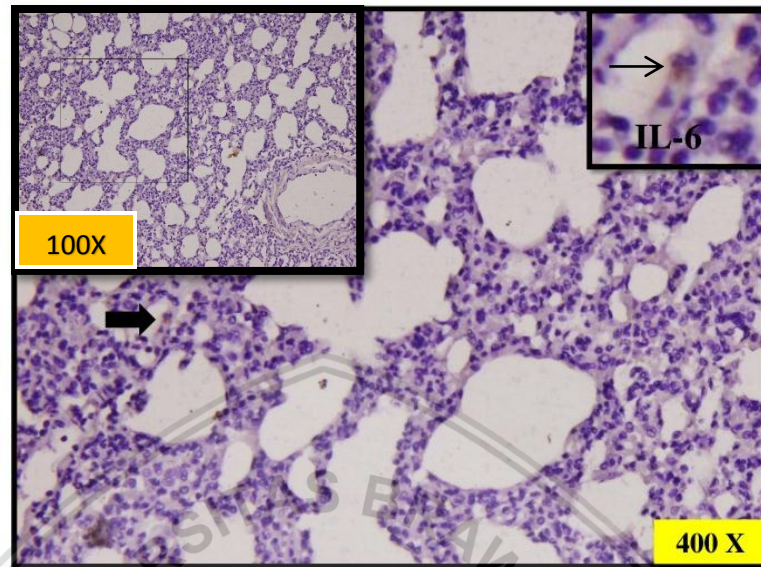
Gambar 5.1 Tikus yang terpapar asap obat nyamuk

5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) dalam Mencegah Ekspresi IL-6 pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk

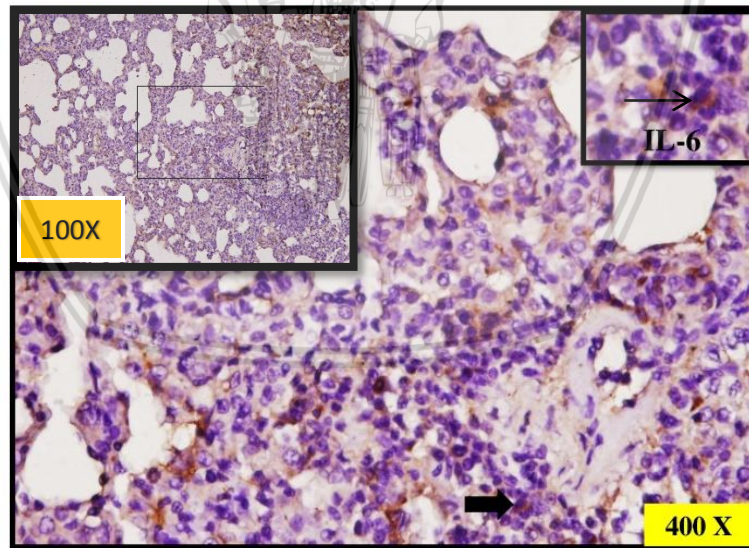
Sitokin IL-6 merupakan sitokin pro inflamasi yang diproduksi fagosit mononuclear di monosit yang berdeferensiasi menjadi makrofag, sel endotel vaskular, fibroblas, dan sel lain sebagai respons terhadap mikroba (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013). Paparan asap obat nyamuk dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas didalam tubuh sehingga dapat mempengaruhi produksi dari sitokin IL-6 pada alveolus (Dellmann and Brown, 2011). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk dalam menurunkan ekspresi IL-6. Pengukuran Ekspresi IL-6 dilakukan menggunakan metode imunohistokimia yang ditandai dengan adanya warna kecoklatan. Ekspresi IL-6

merupakan hasil interaksi antara IL-6 pada jaringan dengan antibodi yang ditambahkan (antibodi primer *mouse anti-IL-6* dan antibodi sekunder *Rabbit anti-mouse IgG* berlabel *biotin*) sehingga mengakibatkan pengikatan kompleks antigen-antibodi yang dikenali SA-HRP yang mengikat H_2O_2 yang teroksidasi menjadi O_2 dan H_2O , kemudian O_2 akan berikatan dengan substrat kromagen DAB sehingga memunculkan warna kecoklatan.

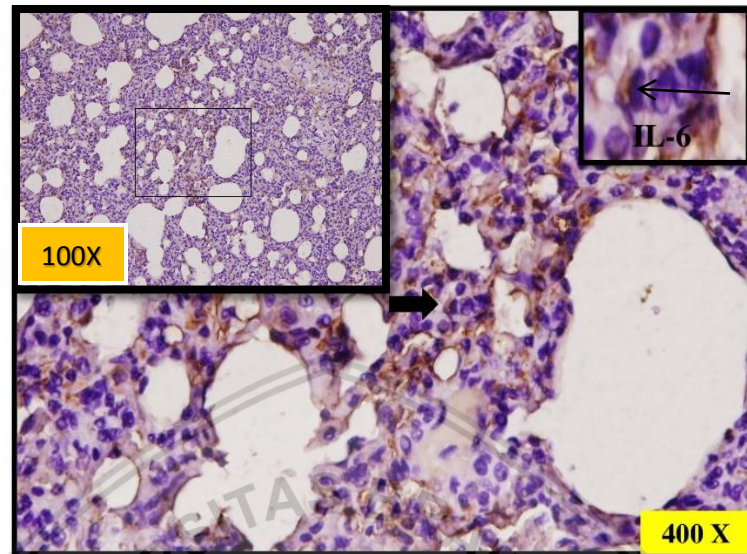
Ekspresi IL-6 terendah berdasarkan warna coklat ditunjukkan pada kelompok negatif (**Gambar 5.2**) yang tidak diberi paparan asap obat nyamuk dan tanpa diberi preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*). Intensitas warna coklat menurun jika dibandingkan dengan kontrol positif (**Gambar 5.3**) seiring dengan ditambahnya jumlah dosis preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) yang diberikan yaitu dosis 25 mg/kg BB (**Gambar 5.4**), dosis 50 mg/kg BB (**Gambar 5.5**) dan dosis 100 mg/kg BB (**Gambar 5.6**). Paparan asap obat nyamuk menyebabkan akumulasi radikal bebas di alveolus, radikal bebas memicu aktivitas dari sel inflamasi. IL-6 terdapat pada sitoplasma sel alveolar dan makrofag.



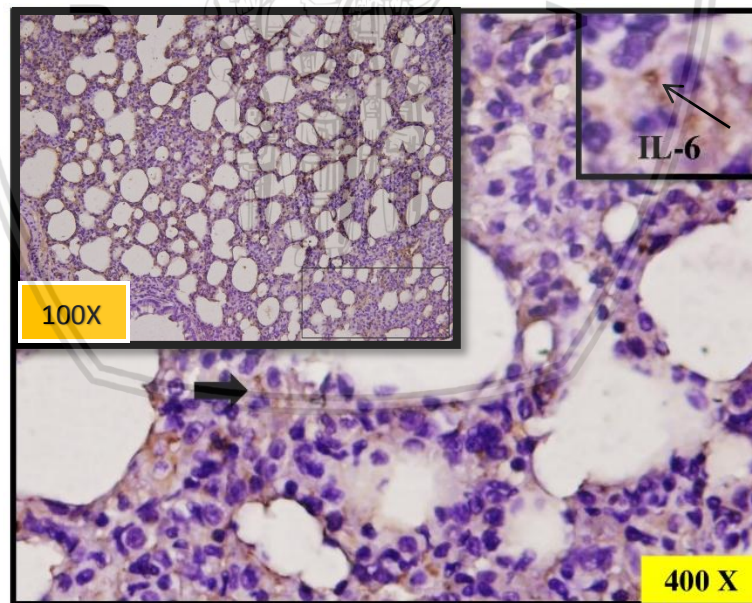
Gambar 5.2 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) Kontrol Negatif pada organ alveolus dengan metode imunohistokimia (400x)



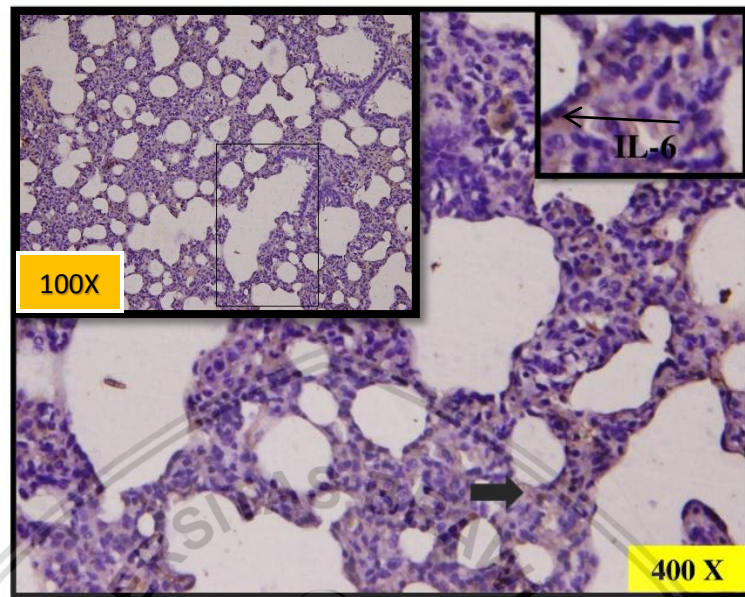
Gambar 5.3 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) Kontrol Positif pada organ alveolus dengan metode imunohistokimia (400x)



Gambar 5.4 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) Perlakuan 1 (dosis 25 mg/kg BB) pada organ alveolus dengan metode imunohistokimia (400x)



Gambar 5.5 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) Perlakuan 2 (dosis 50 mg/kg BB) pada organ alveolus dengan metode imunohistokimia (400x)



Gambar 5.6 Ekspresi Interleukin 6 (IL-6) Perlakuan 3 (dosis 100 mg/kg BB) pada organ alveolus dengan metode imunohistokimia (400x)

Peningkatan Ekspresi IL-6 diukur dengan menggunakan *software immunoratio*, kemudian hasilnya diolah menggunakan *software SPSS 21.0*. Hasil uji normalitas data dan uji homogenitas varian menunjukkan nilai signifikansi ($p < 0,01$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi dan homogenitas yang normal, sehingga dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*. Uji *one way ANOVA* menunjukkan bahwa ($p < 0,01$), berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan pada preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk mampu menurunkan ekspresi IL-6 secara signifikan (**Lampiran 6**). Hasil uji *post hoc Tukey* (**Lampiran 6**) menunjukkan kelompok perlakuan preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) memiliki perbedaan yang nyata dengan kontrol negatif maupun kontrol positif, yang ditandai dengan notasi yang berbeda (**Tabel 5.1**).

Tabel 5.1 Ekspresi IL-6 alveolus tikus (*Rattus norvegicus*) yang mendapat perlakuan preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk.

Perlakuan	Rata-rata ekspresi IL-6 (%) \pm Std. Deviation (%)	Peningkatan terhadap K (-) (%)	Penurunan terhadap K (+) (%)
Kontrol Negatif	8,93 \pm 1,78 ^a	-	-
Kontrol Positif	54,50 \pm 2,73 ^d	83,61%	-
Kelompok Perlakuan 1 (Dosis 25 mg/kgBB)	36,78 \pm 2,45 ^c	-	32,51%
Kelompok Perlakuan 2 (Dosis 50mg/kgBB)	20,97 \pm 3,01 ^b	-	61,42%
Kelompok Perlakuan 3 (Dosis 100mg/kgBB)	18,05 \pm 3,26 ^{ab}	-	66,88%

Keterangan : Perbedaan notasi a,b,c dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan.

Hasil ANOVA ekspresi IL-6 pada hewan coba menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$). Data pada **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa ekspresi IL-6 meningkat pada kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Kelompok kontrol negatif memiliki ekspresi IL-6 paling rendah jika dibandingkan dengan kelompok lainnya, ditandai dengan sedikitnya area berwarna coklat. Pada **Tabel 5.1**, kontrol negatif menunjukkan rata-rata ekspresi IL-6 sebesar $8,93 \pm 1,78$, nilai rata-rata produksi IL-6 pada kontrol negatif digunakan sebagai standart untuk mengetahui adanya peningkatan produksi IL-6. Hal ini dikarenakan tikus kontrol negatif merupakan tikus sehat tanpa diberi paparan asap obat nyamuk, sehingga paparan radikal bebas didalam tubuh hewan coba tidak melebihi kapasitas sehingga minim terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel, yang dalam keadaan

fisiologis sedikit terdapat sel inflamasi. Pada keadaan sehat IL-6 diekspresikan dalam jumlah sedikit oleh sel endotel dan sel alveolar (Arend, 2002). Interleukin 6 dalam keadaan normal memiliki fungsi untuk menstimulasi monosit dan makrofag untuk memproduksi (lebih banyak) IL-1 dan sitokin lainnya seperti tumor necrotizing factor (TNF) dan IL-6, menstimulasi proliferasi sel B untuk meningkatkan sintesis imunoglobulin, serta menstimulasi sel T untuk memproduksi sitokin (Kusuma dewy, 2012).

Pada kelompok kontrol positif menunjukkan peningkatan rata-rata ekspresi IL-6 sebesar 83,61% dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Berdasarkan hasil analisa statistik menggunakan Uji *Tukey*, kelompok kontrol positif menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif, yang ditandai dengan perbedaan notasi. Kelompok kontrol positif memiliki ekspresi IL-6 paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok lainnya, ditandai dengan banyaknya area berwarna coklat. Pada **Tabel 5.1** kontrol positif menunjukkan ekspresi IL-6 sebesar $54,50 \pm 2,73$, nilai rata-rata produksi IL-6 pada kontrol positif digunakan sebagai standart untuk mengetahui adanya penurunan produksi IL-6 pada Kelompok Terapi. Tingginya ekspresi IL-6 karena tikus kelompok kontrol positif merupakan tikus yang diberikan paparan asap obat nyamuk.

Paparan asap anti nyamuk mengandung bahan kimia aktif yang merupakan salah satu faktor peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh (Dellmann & Brown, 2012). Radikal bebas yang akan berinteraksi dengan lipid dan protein pada membran sel, radikal bebas akan memicu reaksi peroksidasi dari asam polienoat yang terdapat

pada retikulum endoplasma, reaksi ini akan menghasilkan radikal bebas baru yang akan memicu reaksi berantai. Peroksidasi lipid ini menyebabkan kerusakan struktur dan gangguan fungsi membran sel. Apabila jumlah radikal bebas yang dikonsumsi cukup banyak, maka akan terjadi peningkatan Ca^{2+} intraseluler yang berdampak pada kematian sel (Klaasen, 2001). Bahan aktif dalam obat nyamuk lebih aktif melepaskan hidrogen dari asam lemak rantai panjang tak jenuh (PUFAs) yang menyebabkan peroksidasi lipid dan terjadi kerusakan pada membran lipid dan protein serta menyebabkan penurunan antioksidan. Reaksi berantai oleh radikal bebas ini akan menimbulkan peningkatan stres peroksidatif yang mengakibatkan kerusakan sel (Kumar *et al.*, 2007). Peningkatan radikal bebas secara signifikan akan ditandai dengan peningkatan kadar *reactive oxygen species* (ROS) dan produksi sitokin proinflamasi, salah satunya ialah IL-6 dan perubahan pada pengamatan histopatologi pada alveolus (Liedtke *et al.*, 2013).

Pada kelompok perlakuan memiliki ekspresi IL-6 berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol positif, ditunjukkan dengan adanya penurunan seiring dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak buah semangka. Berdasarkan **Tabel 5.1**.

Penurunan ekspresi IL-6 pada Kelompok perlakuan disebabkan karena pemberian preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) memiliki kandungan antioksidan berupa likopen merupakan senyawa pemberi elektron (electron donor) atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil, namun mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Likopen bereaksi dengan radikal bebas peroksil atau hidroksil yang terbentuk

dari hidropersida yang berasal dari lipid dengan reaksi oksidatif dalam mendonor elektron sehingga tidak berbahaya bagi tubuh (Novita, 2007). Likopen mempunyai aktivitas antioksidan dengan cara menstimulasi terbentuknya enzim *superoksida dismutase* sehingga antioksidan endogen dapat memiliki kadar yang cukup dalam menetralkan radikal bebas (Novita, 2010).

Likopen dalam mengeliminasi radikal bebas bekerja dengan cara menstimulasi kerja enzim antioksidan primer berupa superoksida dismutase yang merupakan antioksidan intraseluler (Garcia *et al.*, 2001). Likopen mampu mempertahankan kinerja enzim SOD karena likopen mampu meningkatkan regulasi ekspresi gen yang mengakibatkan terjadinya fosforilasi pada *extracellular-signal regulated kinase* dan *nuclear factor κ B* yang dapat mengakibatkan teraktivasi ekspresi MnSOD, yang bertanggung jawab dalam sintesis enzim SOD. Sehingga, hal ini dapat meminimalisir peroksidasi lipid sehingga dapat menurunkan respon inflamasi untuk memproduksi sitokin (IL-6) (Oteiza *et al.*, 2005). Mekanisme likopen mampu mempertahankan aktivitas enzim SOD diduga karena peran likopen menginduksi gen yang bertanggung jawab pada sintesis enzim SOD. Likopen meningkatkan regulasi ekspresi gen antioksidan dengan melibatkan reseptor estrogen, ERK1/2 (*extracellular-signal regulated kinase*), dan NF κ B (*nuclear factor κ B*). Likopen berikatan dengan reseptor estrogen mengakibatkan terjadinya fosforilasi secara cepat pada ERK1/2 dan I κ B mengakibatkan translokasi subunit P50 dari NF κ B menuju inti dan mengakibatkan teraktivasi ekspresi MnSOD, sehingga nantinya

akan terekspresi enzim SOD yang merupakan antioksidan endogen didalam tubuh dalam menetralkan radikal bebas (Borra'S *et al.*, 2006).

Hasil tersebut membuktikan ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat digunakan sebagai preventif pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diberikan paparan obat nyamuk. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa dosis pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) sebesar 100 mg/kgBB merupakan dosis terbaik sebagai preventif paparan asap obat nyamuk pada tikus putih (*Rattus novergicus*) karena mendekati kontrol negatif.

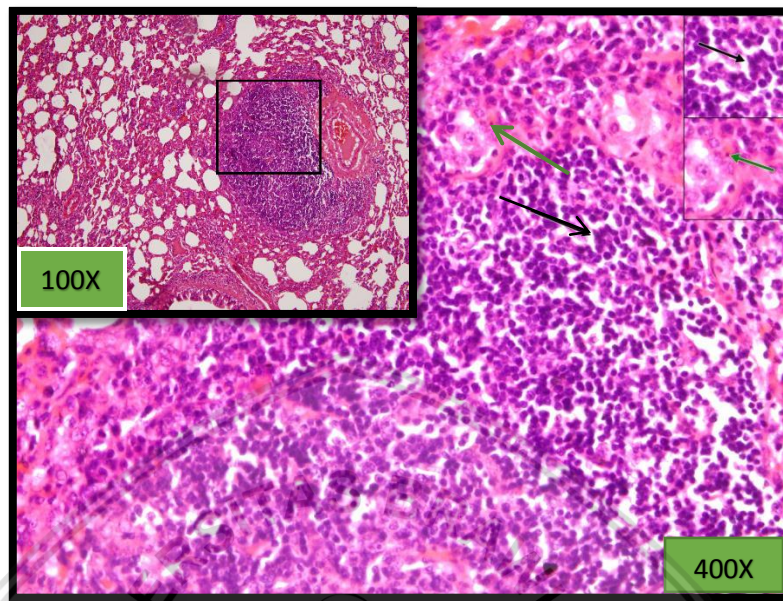
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) dalam mencegah Perubahan Histopatologi Alveolus pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Paparan Asap Obat Nyamuk

Alveolus merupakan bagian dari paru-paru yang merupakan tempat proses pertukaran gas terjadi secara pasif yang ada di tiap kompartemen mitokondria dengan cara difusi (Setiadji,*et al.* 2008). Alveolus terdiri dari sel-sel alveolar, makrofag, endotel (Junqueira, 1995). Pada penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk dalam memperbaiki gambaran histopatologi alveolus menggunakan metode pewarnaan HE (*Hematoxyline Eosin*). Pengamatan histopatologi alveolus dilakukan menggunakan mikroskop binokuler BX53 dengan perbesaran 400x. Pada pewarnaan *Hematoxyline Eosin* zat warna *hematoxyline* akan mengikat basa didalam inti sel yang akan menyerap zat warna tersebut sehingga memberikan warna biru (basofilik). Sedangkan *eosin* akan mengingakat asam pada sitoplasma sehingga memberikan warna merah muda dengan

nuansa yang berbeda sesuai dengan kandungan asam pada sitoplasma (Baratawidjaya, 2006).

Pengamatan gambaran histopatologi alveolus yang diberikan paparan obat nyamuk, yang sebelumnya diberikan ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) dengan membandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang dianalisa secara deskriptif.

Hasil pengamatan histopatologi alveolus menggunakan pewarna *Hematoxyline Eosin* menunjukkan adanya perbandingan kondisi gambaran histopatologi alveolus yang pada masing-masing kelompok perlakuan. Pada kelompok Kontrol Negatif (**Gambar 5.7**) menunjukkan keadaan normal, yang ditandai dengan sedikit ditemukannya leukosit dan sel-sel nekrotik, dinding lumen tidak mengalami penebalan dan tidak ditemukannya sel eritrosit yang keluar ke endotel.

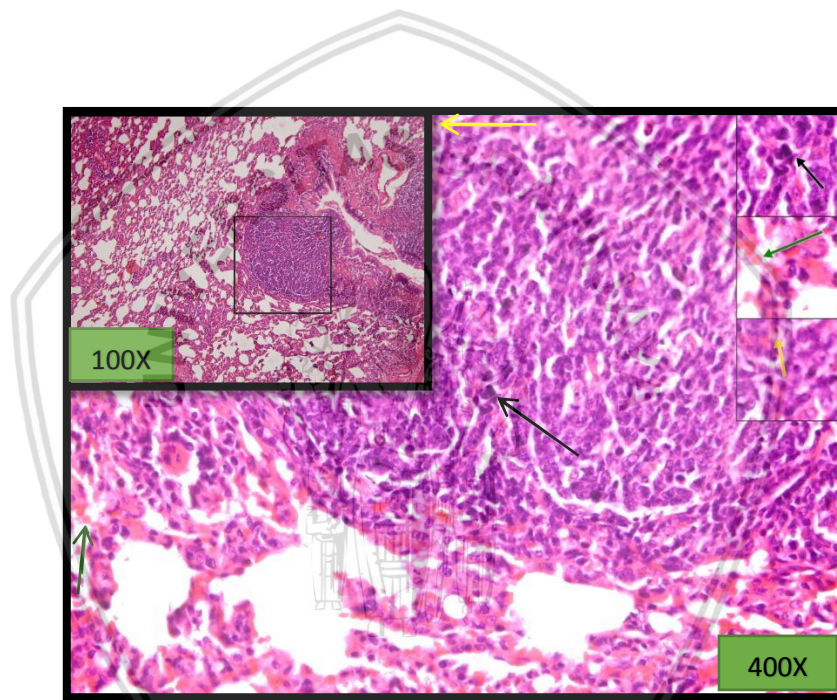


Gambar 5.7 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* Kontrol Negatif

Keterangan :  : Neutrofil
  : Sel Piknosis

Pengamatan histopatologi Alveolus dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* pada kelompok Kontrol Positif (**Gambar 5.8**). menunjukkan adanya penebalan pada dinding lumen, ditemukan adanya neutrofil dan sel nekrotik yang lebih sering ditemukan dibandingkan dengan kelompok yang lainnya. Hal ini disebabkan karena kelompok Kontrol positif diberikan paparan asap obat nyamuk. Paparan asap anti nyamuk mengandung bahan kimia aktif berupa *D-altherin* yang merupakan salah satu faktor peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh (Dawn dkk., 2000). Radikal bebas tersebut dapat memicu kerusakan sel pada jaringan alveolus, hal ini memicu sel-sel inflamasi yang berupa neutrofil terekspresi di jaringan (Dellmann and Brown, 2012). Kerusakan jaringan pada alveolus akibat radikal bebas ditandai dengan adanya

nekrosis pada sel-sel alveolus karena nekrosis merupakan kematian satu atau lebih sel atau sebagian jaringan atau organ yang dihasilkan dari degenerasi yang *irreversible* jika terjadi kerusakan jaringan (Berata *et al.*, 2011). Kerusakan akibat paparan asap obat nyamuk juga dapat menyebabkan penebalan pada lumen alveolus, akibat proliferasi jaringan parut sehingga jaringan tersebut menjadi tebal dan kaku (Moore *et al.*, 2013).

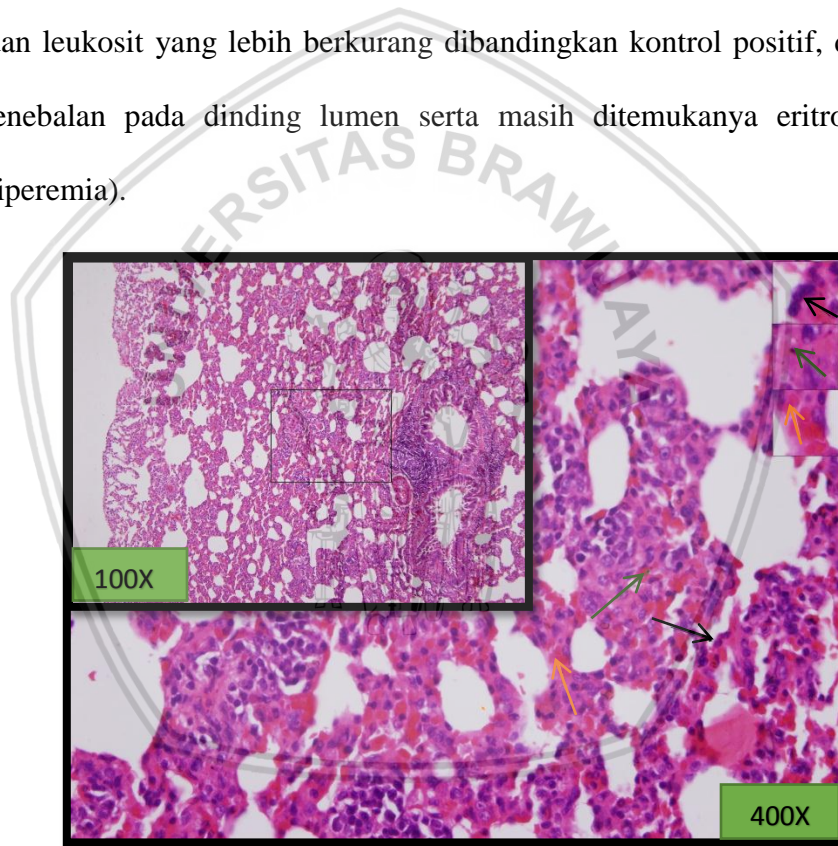


Gambar 5.8 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* Kontrol Positif

Keterangan : ➡ : Neutrofil
➡ : Sel Piknosis
➡ : Eritrosit

Kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 dengan pemberian preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, dan 100 mg/kg BB menunjukkan hasil yang berbeda dibanding gambar kontrol positif. Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi alveolus dengan pewarnaan

Hematoxyline Eosin menunjukkan preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) mampu mencegah kerusakan gambaran histopatologi alveolus, berbanding lurus dengan peningkatan dosis. Pada kelompok perlakuan 1 (**Gambar 5.9**) dengan pemberian preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dosis 25 mg/kg BB. Gambaran histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin*, didapatkan sel-sel nekrotik dan leukosit yang lebih berkurang dibandingkan kontrol positif, ditemukan adanya penebalan pada dinding lumen serta masih ditemukannya eritrosit diluar endotel (hiperemia).



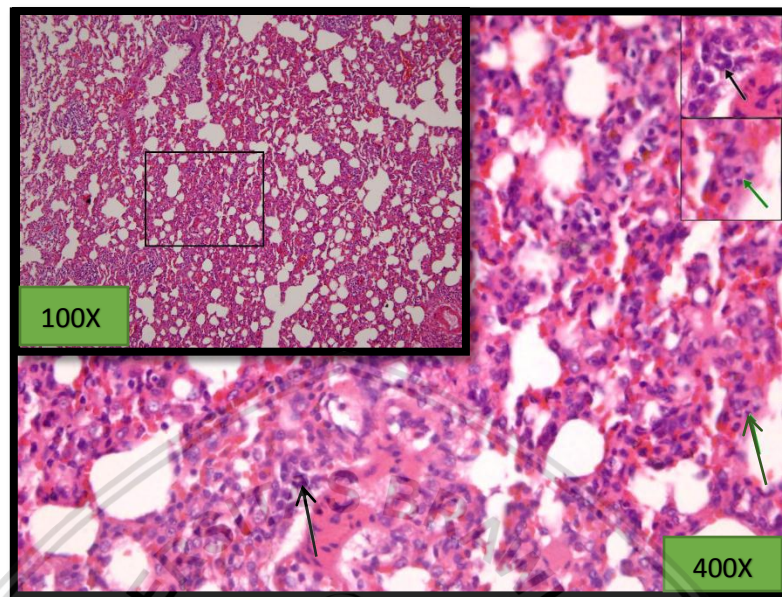
Gambar 5.9 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* Perlakuan 1

Keterangan :

➡	: Sel Piknosis
➡	: Neutrofil
➡	: Eritrosit

Kelompok perlakuan 2 (**Gambar 5.10**) dengan pemberian preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dosis 50 mg/kg BB. Gambaran histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin*, menunjukkan adanya leukosit dan sel-sel nekrotik yang lebih berkurang dibandingkan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 2, tidak ditemukan adanya penebalan pada lumen alveolus dan ditemukan sedikit erosit yang keluar dari endotel dibandingkan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 2.

Penebalan dinding lumen merupakan respon fisiologis terhadap radikal bebas karena sel mempunyai daya pertahanan yang tinggi terhadap *d-altherin* yang bersifat sitotoksik yang menyerangnya, sehingga menyebabkan kematian sel karena peroksidasi lipid. Kematian sel yang terus menerus dapat mengakibatkan pergantian jaringan menjadi jaringan parut sehingga lumen alveolus mengalami penebalan (Yohana, 2015). *D-altherin* dalam obat nyamuk dapat memicu kerusakan sel pada jaringan alveolus, sehingga respon fisiologis tubuh dapat mengekspresikan sel-sel leukosit (Dellmann and Brown, 2012). Pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*), sebagai tindakan preventif dapat mencegah kerusakan sel sehingga dapat meminimalisir adanya leukosit dalam jaringan (Sizer and Whitney, 2000).



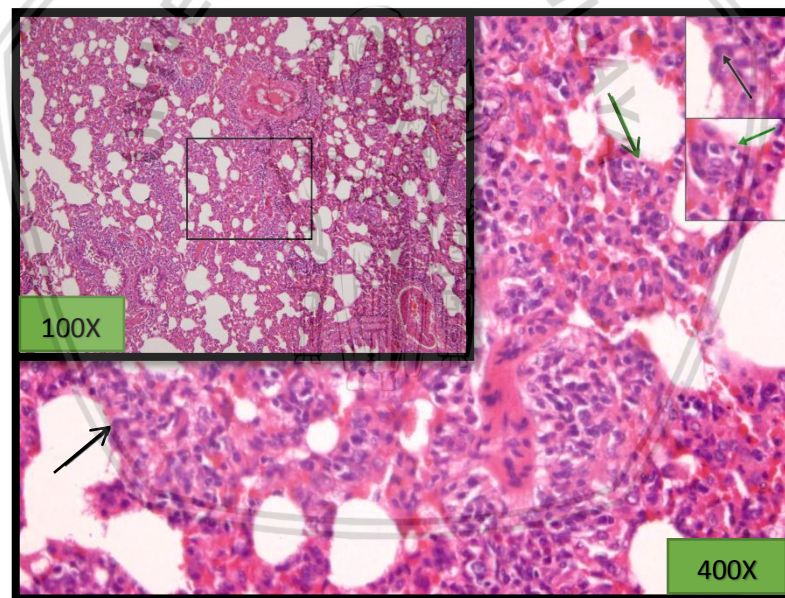
Gambar 5.10 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* Perlakuan 2

Keterangan : ➡ : Neutrofil
 ➡ : Sel Piknosis

Kelompok perlakuan 3 (**Gambar 5.11**) dengan pemberian preventif ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dosis 100 mg/kg BB. Gambaran histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin*, didapatkan sel radang dan sel nekrotik yang lebih berkurang dibanding Kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 serta hampir tidak ditemukan penebalan lumen alveolus dan eritrosit yang keluar dari endotel, mendekati kontrol negatif.

D-altherin dalam obat nyamuk yang mengandung radikal bebas dapat menyebabkan nekrosis pada sel-sel alveolus karena nekrosis merupakan kematian sel jika terjadi kerusakan jaringan akibat paparan radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid pada sel (Berata *et al.*, 2011). Berkurangnya penebalan dinding lumen karena pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) yang

mengandung likopen. Likopen bekerja sebagai sebuah sistem untuk mencegah kerusakan akibat radikal bebas (Sizer and Whitney, 2000). Kandungan antioksidan ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) menghambat proses inisiasi sehingga dapat mencegah pembentukan radikal lipid yang bersifat tidak stabil karena hilangnya satu atom hidrogen (H) dari molekul lipid akibat radikal hidroksil (OH-) (Sumardika dan Jawi, 2012). Apabila radikal bebas dapat dicegah, maka kerusakan sel dapat diminimalisir sehingga mencegah pergantian sel menjadi jaringan parut yang mengakibatkan penebalan dinding lumen (Yohana, 2015)



Gambar 5.11 Gambaran Histopatologi Alveolus dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* Perlakuan 3

Keterangan : ➡ : Neutrofil
 ➡ : Sel Piknosis

Berkurangnya tingkat kerusakan akibat paparan asap obat nyamuk pada gambaran histopatologi alveolus tikus (*Rattus novergicus*) diakibatkan kandungan

likopen yang terdapat pada ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*), sehingga dapat mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas (Sizer and Whitney, 2000). Likopen termasuk golongan antioksidan kuat yang berpotensi menghambat radikal bebas (Sary, 2011). Likopen dapat menetralkan atau menghancurkan radikal bebas dengan cara berinteraksi langsung dengan oksidan atau radikal bebas, mencegah pembentukan jenis oksigen reaktif, mengubah oksigen reaktif menjadi kurang toksik dan memperbaiki kerusakan yang timbul, Antioksidan bekerja sebagai sebuah sistem untuk menghentikan kerusakan akibat radikal bebas (Sizer and Whitney, 2000). Likopen menyumbangkan atom hidrogen untuk menangkap radikal hidroksil (OH-) agar tidak menjadi reaktif sehingga mencegah terbentuknya radikal bebas, Likopen bekerja melalui penangkapan dan menghilangkan O- pada peroksida nitrit (ONOO-) yang terbentuk dari nitrit oksida (NO) dengan superoksida (O₂-) yang bersifat radikal bebas (Moller *et al.*, 1996).

Hasil tersebut membuktikan ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dapat digunakan sebagai preventif pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diberikan paparan obat nyamuk. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa dosis pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) sebesar 100 mg/kgBB merupakan dosis terbaik sebagai preventif paparan asap obat nyamuk pada tikus putih (*Rattus novergicus*).

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) dengan dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dapat digunakan sebagai preventif pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diberi paparan asap obat nyamuk, yang mencegah kerusakan histopatologi alveolus, serta dapat menurunkan ekspresi IL-6 secara signifikan.
2. Dosis 100 mg/kg BB merupakan dosis terbaik yang dapat memperbaiki histopatologi alveolus tikus dan dapat menurunkan ekspresi IL-6 mendekati kelompok kontrol negatif.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait peningkatan dosis preventif bisa lebih dari dosis 25mg/kgBB, 50mg/kgBB, 100mg/kgBB ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) agar hasil yang diperoleh didalam penelitian lebih signifikan lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas. A. K., Lichtman, A.H. & Pillai, S. 2010. *Selular and molecular immunology*, updated ed. 6 ed. Philadelphia. John E.Kennedy Blvd Ste 1800.
- Agarwal. A., Rao. A.V. 2000. *Tomato Lycopene and its Role in Human Health and Chronic Diseases*.
<http://www.cmaj.ca/cgi/content/full/163/6/739>.
- Almahdy. A. 2014. *Uji Efek Teratogen Anti Nyamuk Bakar yang Mengandung Transflurin terhadap Fetus Tikus Putih*. Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Semarang.
- Amelia. Y. A. 2015. *Hubungan Lama Penggunaan Obat Anti Nyamuk Bakar dengan Kadar Kolinesterase Darah pada Masyarakat Kelurahan Jati Rumah Gadang Padang*. Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.
- Andri. D. 2001. *Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol dalam Daun Teh*. Majalah Jurnal Indonesia 12 (1). hal. 53-58.
- Arauna, Yosia, Aulanni'am, dan Oktavanie. A. D. 2012. *Studi Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia yang diterapi Dengan Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrophthoe petandra)* [Skripsi]. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya. Malang.
- Arifianto. N. 2009. *Consumers Prefences Towards Watermelon in Semarang*. Fakultas Pertanian Universitas Wahid Hasyim. Semarang.
- Armitage. D. 2004. *Rattus norvegicus*. *Animal Diversity Web Online*. at: http://animaldiversity.ummz.umich.edu/accounts/Rattus_norvegicus/. [06 Januari 2017].
- Arobi. I. 2010. *Pengaruh Pemberian Jahe Merah (Zingiber officinale rosc) Terhadap Perubahan Pelebaran Alveolus Paru-Paru Tikus (Rattus noevegicus) yang terpapar alletrin* [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Arum. S. J. 2011. *Analisi Deskriptip Insektisida yang Beredar di Rumah Tangga. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit*. Salatiga.
- Ashari. Y. 2013. *Pemberian Salep Sari Daun Mengkudu (Marinda cirtifolia L.) terhadap Peningkatan Kepadatan Serabut Kolagen pada Mukosa*

Oral Mulut. [Skripsi] Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Baratawidjaja. G. K., dan I. Rengganis. 2013. *Imunologi Dasar Edisi ke-10*. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Becker. N., D. Petric, M. Zgomba, C. Boase, M. Madon, C. Dahl and A.Kaiser. 2010. *Musquitos and Their Control*. Heidelberg:Springer.

Brian. J. E. 2008. Breathing, Aerobic Conditioning and Gas Consumption. http://www.gue.com/Research/Exercise/q2_3g.html.

Dawn. H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., and Taniguchi, H., 2002, Antioxidant Isolated from Leaf Wax of Eucalyptus Leaves, *J. Agric Biol Chem.*, 45, 735-739.

Dellmann dan Brown. 1989. Buku Teks Histologi Veteriner. Edisi ke-3. Penerjemah: Hartoni, R. judul buku asli: *Textbook Of Veterinary Histology.*, Universitas Indonesia Press. Jakarta: 592-598.

Dhari. A. 2015. *Penggunaan Insektisida dalam Rumah Tangga*. Fakultas Kesehatan UDINUS. Semarang.

Dianing. T. H. 2014. *Isolasi Likopen dan Uji Aktivitas Antioksidan dalam Kulit dan Buah Semangka (Citrullus lanatus)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.

Eisenbarth., B. Halliwell and M. Whiteman. 2002. *Measuring reactive species and oxidative damage in vivo*. *British Journal of Pharmacology*. 142: 231-255.

EPA (Environment Pesticide Agricultural). 2002. "Baygon Agents". Pesticide Active Ingredient Information. http://www.baygon.com/incontent/cfm?a_id. [17 September 2017].

Fariz. E. K. 2014. *Pengaruh Paparan Obat Nyamuk terhadap gambaran Histopatologi Sel Leydig Tikus Sprague Dawley*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.

Firmansyah. R., Hakim. R. Damayanti. D. 2015. Efek Antihipertensi Dekokta Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Melalui Penghambatan ACE (Studi *In Silico*). *Jurnal Kedokteran Komunitas Vol 3(1)*: 200-208

Gede. D. B. T. 2010. *Mycobacterium Tuberculosis Sebagai Penyebab Penyakit Tuberculosis*

- Gordon. A. 2007. How to grow watermelon. Dikutip dari: www.geocities.com/green_cacile/watermelon.html. [17 September 2017].
- Hayes. A., Wallace. 2001. *Principles and Methods of Toxicology*. (Edisi Keempat). USA: Taylor & Francis Routledge.
- Hazel. Y. M. 2013. *Upaya Pencegahan Malaria oleh Masyarakat di Wilayah Kerja PUSKESMAS Kayeli, Kecamatan Wayapo, Kabupaten Buru, Maluku*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Makassar.
- Herawajuli. 2015. "Obat Nyamuk". Mailing List Dokter Indonesia (MLDI). <http://www.mail.archive.com/dokter.ac.id> [17 September 2017].
- Hernawati. 2005. *Sistem Pernafasan Manusia pada Kondisi latihan dan Perubahan Ketinggian*. Jurusan Biologi Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Ishartadiati. K. 2008. *Peranan TNF, IL-1, dan IL-6 Pada Respon Imun Terhadap Protozoa*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma
- Ismail. M. M. 2009. *Daya Bunuh Beberapa Obat Nyamuk Bakar terhadap Nyamuk Anopheles aconitus*. Fakultas Farmasi Universitas Muhamaddiyah Surakarta.
- Israwati. Y. 2009. *The Effect Of Caterpillar Fungus (Cordyceps sinensis [Berk.] Sacc.) Toward interleukin 2 Level In Paracetamol-Induced Mice (Mus musculus L.)*. Pusat Penelitian Ilmu Kedokteran (PPIK). Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha.
- Iswara. A. 2009. *Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C Dan E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin*. Skripsi. Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Junqueira. L. C., Carneiro, J dan Kelley, R.O. 1995. *Histologi Dasar*. Terjemahan oleh J. Tembayong. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Junquiera. L. C., dan J. Carneiro. 2010. *Basic Histology*. The McGraw-Hill Companies.
- Kirana. R. 2009. *Pengaruh Pemberian Teh Hijau (Commelia sinensis) terhadap Kerusakan Struktur Histologi Paru Mencit yang Dipapar*

Asap Rokok. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Klaassen. C. D. 2008. *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. New York: McGraw-Hill. Hlm. 557-562.

Koski. A., E. Psomiadou., M. Tsimidou., A. Hopia., P. Kafalas., K. Wahala and M. Heinonen. 2002. Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil, *Eur. Food Res. Technol.*, 214 : 294 – 298.

Kumar, Abbas, Fausto, Mitchell. 2007. *Basic Pathology 8th Edition*. Jakarta: EGC. p.595-97

Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Surabaya: Airlangga University Press.

Liedtke. C., Leudde, T., Tacke, F., Streetz, K., Trebicka, J., and Tolba, R. 2013. *Experimental Liver Fibrosis Research: Update on Animal Models, Legal Tissue and Translational Aspects: Fibrogenesis and Tissue Repair*. Biomed Central, 6:19.

Liu. W., Zhang, J., Hashim, J.H., Jalaludin, J., Hashim, Z., and Goldstein, B.D. 2003. "Mosquito Coil Emissions and Health Implications". *Environment Health Perspective* 111 (12) : 1454-1460. <http://dx.doi.org>.

Liu. W. K. 1987. *Toxic Effects of Mosquito Coil (A Mosquito Repellent) Smoke on Rats*. Departement of Biology Babtixt College. Hongkong

Made. S. I. 2016. *Pengaruh Pemberian Jus Semangka Terhadap Penurunan Tekanan Darah Lansia*. Bagian Gizi, Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.

Made. L., nd. *Pengaruh Propolis Terhadap Sekresi Interkulin-12 Pada Supernatan Kultur Magrofag Dari Penderita Tuberkulosis Paru yang Diinfeksi M.Tuberculosis*.

Maula. I. F. 2014. *Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Pada Tikus Putih Jantan (Rattus novergicus) Galur Sprague Dawley Secara In Vitro* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.

Maulida. D dan N. Zulkarnaen, 2011. *Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solvent Campuran n-Heksana*,

Aseton dan Etanol. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.

- Muthia. R. 2017. *Uji Aktivitas In Vivo Ekstrak Etanol Kulit Buah Semangka (Citrulus lanatus L.) Sebagai Diuretik dengan Pembanding Furosemid*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari. Banjarbaru.
- Novita. M. 2010. *Karakteristik Likopen sebagai Antioksidan*. Universitas Kristen Satya Wacana. Jawa Tengah.
- Nuril. S. 2003, *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas*. Trubus Agrisarana. Surabaya.
- Oktavia. D. N. 2015. *Penggunaan Pestisida dan Kandungan Residu pada Buah Semangka*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Jember.
- Oseni, O. A. and Okoye, V. I., 2013, Studies of Phytochemical and Antioxidant properties of the Fruit of Watermelon (*Citrullus lanatus*). (Thunb.). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 27 (27). hal. 508-514.
- Pita. Y., Y. Tadmor and E. Lewinsohn. 2007. *Comparative Fruit Colouration in Watermelon and Tomato*. *J. Food Int.* 38. hal. 837-841.
- Rahayuningsih. T. 2010. *Efek teratogenik asap obat nyamuk bakar terhadap fetus mencit (mus musculus l.) galur balb-c pada masa organogenesis*. Skripsi. Yogyakarta : Fakultas Biologi UGM
- Ramos-Vara. J.A. 2005. Technical Aspects of Immunology. *Vet Pathol*, 42, pp.405-26.
- Riasman. U. 2012. *Isolasi Dan Karakterisasi Pektin Dari Kulit Buah Semangka (Citrullus Lanatus)*. Skripsi. Kimia Fmipa Universitas Tadulako, Palu.
- Rochmatika. L. D. 2012. Analisis Kadar Antioksidan pada Masker Wajah Berbahan Dasar *Lapisan Putih Kulit Semangka (Citrullus Vulgaris Schrad)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Satiti. T. 2012. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2). hal. 53-61.

- Setiadji. S, Nur. B.M, Gunawan. B. 2008. Uji Faal Paru. *Cermin Dunia Kedokteran* 24: 7-11.
- Sigit. S dan Hadi. U. (2006) *Hama Permukiman Indonesia Pengenalan Biologi&Pengendalian Unit Kajian Pengendalian Hama Permukiman (UKPHP)* ISBN 979-25-6940-5. IPB, Bogor
- Sizer. F., dan Whitney, E. 2000. *Nutrition Concept and Controversies. America : Thomson Learning Library of Congress Cataloging.*
- Subagyo. A., Aditama. T. Y., Sutoyo. D. K., dan Partakusuma. L. G. 2011. *Pemeriksaan Interferon-Gamma Dalam Darah untuk Deteksi Infeksi Tuberkulosis*
- Suckow. M. A., H. Steven, C. L. Franglin. 2006. *The Laboratory Rat Second Edition.* A volume in American College of Laboratory Animal Medicine. Academic Press.
- Suhanda. W. P. dan Tim Lentera. 2009. *Manfaat Tanaman Sayur Untuk Mengatasi Aneka Penyakit.* Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Sunarmani. 2008. *Teknologi Pangan.* Untad Press. Palu.
- Sunarto. 2002. "Pengaruh Karbonmonoksida (CO) Udara terhadap Status Kesehatan Polisi yang Bertugas di Jalan Raya Yogyakarta". *BioSmart* 4 (1) : 40-45.
- Suwandi. 2012. *Uji Penangkapan Radikal Bebas DPPH, Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total dalam Ektrak Meniran (Phyllanthus urinaria Linn.).* Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Syamsuri. 2000. *Biologi 2000.* Jakarta: Erlangga
- Tew. J. E. 2006. Bee Culture. <http://www2.oardc.ohio-state.edu/agric/bee/>
<http://beelab.osu.edu/Medina>, 134(6); 29, 3 pgs . Diakses tanggal 30 Oktober 2017.
- Wahjuni. S. 2011. *Residu Bahan Aktif Asap Obat Nyamuk Bakar yang Terbuat dari Daun Legudi (Vitex trifolia L.) pada Organ Paru Mencit.* Bali. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. ISM, VOL.1 NO.1, JANUARI-APRIL, HAL.1-6.
- Wahyudi. A. 2015. *Peningkatan Produksi Buah Semangka Menggunakan Inovasi Teknologi Budidaya Sistem "ToPAS".* Politeknik Negeri Lampung.

- Wenli. Y., Z. Yaping., X. Zhen., J. Hui and W. Dapu. 2001. *The antioxidant properties of lycopen concentrate extracted from tomato paste.*
- Wikipedia. T. 2013. Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa Kecambah dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae. *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2). hal. 53-61.
- Winarsi. S. 2007. *Makanan Fungsional*. Surabaya: Graha Ilmu.
- Christijanti. J, N. R. Utami, A. Iswara. *Efek Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin*. *Biosaintifika*. Vol. 2 No 1, 2010 : Hal 18-26
- Yueniwati. Y dan Mulyohadi. A. 2004. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek terhadap Peroksidasi Lemak dan System Proteksi Superoksid Dismutase Hepar Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran YARSI*.

